

Qualitative und quantitative Analyse ultradünner
Serienschnitte durch verschiedene Entwicklungsstadien
aus dem vegetativen und generativen Zellzyklus des
heterotrophen Phytoflagellaten *Polytoma papillatum*
unter besonderer Berücksichtigung
des Mikrotubuliinventars

von

Klaus W. Wolf

aus

Marktredwitz

Diss. Erlangen





Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546214_0073

Qualitative und quantitative Analyse ultradünner
Serienschnitte durch verschiedene Entwicklungsstadien
aus dem vegetativen und generativen Zellzyklus des
heterotrophen Phytoflagellaten *Polytoma papillatum*
unter besonderer Berücksichtigung
des Mikrotubuliinventars

Den Naturwissenschaftlichen Fakultäten
der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg

zur

Erlangung des Doktorgrades

vorgelegt

von

Klaus W. Wolf

aus

Marktredwitz

Als Dissertation genehmigt von den Naturwissenschaftlichen
Fakultäten der Universität Erlangen-Nürnberg

Tag der mündlichen Prüfung: 25.05.1984

Vorsitzender der Prüfungskommission: Prof. Dr. K.Jarobs

Erstberichterstatter: Prof. Dr. C.-G.Arnold

Zweitberichterstatter: Prof. Dr. H.Korn

INHALTSVERZEICHNIS

Erster Teil (Text, Tabellen und Abbildungen):

Seite

I EINLEITUNG

1.	Allgemeines.....	1
2.	Methode.....	2
3.	Vorbemerkungen zu den Themenbereichen der Untersuchung..	3
3.1.	Der Basalkörperkomplex.....	4
3.2.	Cytoplasmatische Mikrotubuli.....	5
3.3.	Mitose.....	6

II MATERIAL UND METHODEN

1.	Biologisches Material.....	10
2.	Anzucht.....	10
3.	Fixierung	
3.1.	Materialien.....	10
3.2.	Präparation A.....	11
3.3.	Präparation B.....	11
4.	Entwässern und Einbetten.....	12
5.	Herstellung der Schnittserien und Elektronen= mikroskopie.....	12
6.	Präparation für die cytochemische Untersuchung.....	13
7.	Auswertung der Schnittserien	
7.1.	Rekonstruktion mittels graphischer Methoden.....	14
7.2.	Modellbau.....	15
7.3.	Morphometrie.....	16

III ERGEBNISSE

1.	Interphase.	
1.1.	Basalkörperkomplex.....	17
1.2.	Mikrotubulisysteme.....	19
2.	Preprophase.....	21
2.1.	Das Mikrotubuliinventar der frühen Preprophasezelle...	22
2.2.	Beobachtungen nach Kältebehandlung.....	23
2.3.	Späte Preprophase.....	24
2.3.1.	Basalkörperkomplex.....	25
2.3.2.	Das Mikrotubuliinventar in der späten Preprophase....	26
3.	Junge Zygote.....	27
4.	RNA im Basalkörperkomplex ?.....	29
5.	Mitose.....	29
5.1.	Basalkörperkomplex und cytoplasmatische Mikrotubuli	
5.1.1.	Prophase.....	30
5.1.2.	Meta- und Anaphase.....	36

5.2.	Intranukleäre Verhältnisse	
5.2.1.	Frühe Prophase	37
5.2.2.	Die Morphologie von späten Prophase-, Metaphase- und Anaphasekernen	39
5.2.3.	Verteilung der Mikrotubulimasse und Mikrotubulidichte in späten Prophase- bis Anaphasekernen	41
5.2.4.	Demonstration des Auswertverfahrens für die Mikrotubulirekonstruktion aus Querschnittserien	46
5.2.5.	Numerische und topographische Rekonstruktion des Mikrotubuliiinventars	47
5.2.6.	Mikrotubuli-Mikrotubuli-Abstände	53
5.2.7.	Mikrotubuligehalt, Kernvolumen, Kernlänge und Teilungskapazität der Zelle	57
5.2.8.	Kinetochore	60
5.3.	Telophase	
5.3.1.	Kerngestalt und intranukleäre Mikrotubuli	65
5.3.2.	Basalkörperkomplexe	66
5.3.3.	Cytoplasmatische Mikrotubuli	68
6.	Cytokinese	70
7.	Tochterzellen	71
7.1.	Basalkörperkomplexe	71
7.2.	Cytoplasmatische Mikrotubuli	72
IV	DISKUSSION	
1.	Methodik	75
2.	Der Basalkörperkomplex im Zellzyklus	
2.1.	Interphase	76
2.2.	Preprophase	77
2.3.	Mitose und frühe Interphase	78
2.3.1.	Das Wurzelfasersystem	78
2.3.2.	Basalkörper	79
2.4.	RNA im Basalkörperkomplex ?	82
3.	Cytoplasmatische Mikrotubuli	82
3.1.	Interphase, Preprophase und frühes Zygotenstadium	82
3.2.	Cytokinese	87
3.3.	Junge Interphasezellen innerhalb des Sporangiums	88
4.	Mitose	90
V	ZUSAMMENFASSUNG	101
VI	LITERATURVERZEICHNIS	103

Zweiter Teil (Anhang mit elektronenmikroskopischen

Aufnahmen):

117-167

E r s t e r T e i l : Text, Tabellen und Abbildungen

11 Einleitung

1. Allgemeines

Erst mit der Einführung von Aldehyden als Fixierungsmittel (Sabatini et al. 1963) erreichte man einen Präparationszustand in biologischen Objekten, der im Elektronenmikroskop unverzweigte, röhrenförmige Strukturen mit einem Außendurchmesser von 18-30nm (Durchschnitt: 24nm) erkennen ließ. Diese Bestandteile aller eukaryontischen Zellen nannte man Mikrotubuli (Mt). Sie bestehen im wesentlichen aus einem als Tubulin bezeichneten Protein, das wiederum aus 2 Untereinheiten bekannter Primärstruktur (Little et al. 1981) zusammengesetzt ist. Ausgehend von den klassischen Arbeiten über die Verteilung von Mikrotubuli in tierischen Zellen (Slautterback 1963) und über Mikrotubuli als Bestandteile pflanzlicher Zellen (Ledbetter & Porter 1963) spannt sich ein weiter Bogen experimenteller Aktivität bis zu 2 Monographien in neuerer Zeit (Dustin 1978; Roberts & Hyams 1979), die den aktuellen Stand des Wissens über Mikrotubuli zusammenfassen.

Bei den Überlegungen zum Erwerb mikrotubulihaltiger Strukturen im Verlauf der Evolution wurden 2 Vorstellungen entwickelt. Pickett-Heaps (1974) vertritt eine endogene Entstehungsweise, während Margulis (1975) Mikrotubulisysteme auf einen endosymbioseartigen Vorgang (exogen) zurückführt, wie er auch zur Erklärung der Entstehung anderer eukaryotischer Zellorganellen (Mitochondrien und Plastiden) herangezogen wird. In diesem Fall wären Nukleinsäuren in den betreffenden Zellstrukturen zu erwarten, die, da sie sich von den aufgenommenen Organismen ableiten, eine von den Nukleinsäuren des Zellkerns abweichende Zusammensetzung haben sollten. Allein über die Existenz und die Art der Nukleinsäuren in Zellbestandteilen, die aus Mikrotubuli zusammengesetzt sind, oder ihnen als Ansatzstelle dienen, herrschen noch Zweifel. Das Problem war schon Gegenstand zahlreicher Experimente (Literatur bei Wheatley 1982) und auch eigener Bemühungen (Wolf 1979). Wenn auch eine endgültige Klärung noch aussteht, so scheint doch die Anwesenheit von DNA (Desoxyribonukleinsäure) wenig wahrscheinlich (Dodson 1979), während sich die Befunde zugunsten von RNA (Ribonukleinsäure) häufen (z.B. Rieder 1979; Pepper & Brinkley 1980).

Bei der Beschreibung von Mikrotubulisystemen trifft man immer wieder auf Begriffe wie "nucleating centers" (Tilney 1968) oder "microtubule organizing centers (MTOC)" (Pickett-Heaps 1971). Damit bezeichnet man Orte in der Zelle, von denen man vermutet, daß sie den Aufbau von Mikrotubuli initiieren und somit ihre Verteilung kontrollieren. Diese Zentren bestehen oft aus Ansammlungen von amorphem Material, in denen

Mikrotubuli inserieren (Hepler & Palewitz 1974). Die Bezeichnung MTOC ist gebräuchlicher und soll im folgenden beibehalten werden.

Mikrotubuli sind am Aufbau vieler Zellbestandteile (z.B. Spindelapparate, Basalkörper, Flagellen bzw. Cilien und Axoneme der Heliozoa oder Suctoria) beteiligt, und man schreibt ihnen eine aktive Rolle bei den Bewegungsvorgängen zu, die an den genannten Elementen ablaufen. Hepler & Palewitz (1974) glauben 2 Prinzipien unterscheiden zu können, wie die Mikrotubuli dabei ihre Wirkung entfalten. Da sind zum einen Auf- und Abbau der Mikrotubuli, die durch die Lage des Gleichgewichts zwischen Polymer (Mikrotubuli) und Monomer (Tubulin) bestimmt werden. Zum zweiten gibt es die Möglichkeit der Bewegung von Zellbestandteilen, worunter auch ein zweiter Tubulus fallen kann, entlang der Mikrotubulioberfläche durch die Aktivität von Querbrücken zwischen den beiden Elementen, wie sie beispielsweise zwischen den Mikrotubuli der Flagellen bzw. Cilien existieren (vergl. Satir et al. 1981). Mikrotubuli werden auch zum Cytoskelett gehörig betrachtet, das für die Herstellung und Aufrechterhaltung der Zellform verantwortlich gemacht wird (Newcomb 1969).

2. Methode

Die Methoden, mit deren Hilfe man die Fragen nach der Bedeutung der Mikrotubuli zu beantworten versuchte, reichen von biochemischen (Bryan 1974), biophysikalischen (Mandelkow et al. 1983) und genetischen Ansätzen (Oakley & Morris 1980; Warr 1974) über die Anwendung von Hemmstoffen (Wilson 1974) bis hin zur Strukturaufklärung mit dem Elektronen- und dem Lichtmikroskop. Ohne den Einsatz von jüngst entwickelten Immunofluoreszenstechniken (Weber et al. 1977) wäre die Betrachtung der Mikrotubuli im konventionellen Lichtmikroskop nicht möglich. Da die Zellwand der Pflanzen die Passage der dabei eingesetzten Antikörper behindert (Wick et al. 1981), ist bei pflanzlichem Material die Strukturforschung mit Immunmethoden auf hochspezialisierte wandlose Zellen, Gameten oder experimentell von der Zellwand befreite Protoplasten beschränkt. In Folge eines solch massiven Eingriffs in das Zellgefüge besteht jedoch die Gefahr artifizieller Veränderungen unter anderem auch der räumlichen Charakteristika der Mikrotubuli (Wick et al. 1981). Diese Bedenken und das größere Auflösungsvermögen des Elektronenmikroskops führten unter anderem in der beabsichtigten morphologischen Studie am wandhaltigen Phytoflagellaten **Polytoma papillatum** zum Einsatz elektronenoptischer Methoden. Damit war auch gleichzeitig eine bessere Möglichkeit zur Beobachtung anderer Zellbestandteile gegeben. Um aus ultradünnen Schnitten Informationen über die dreidimensionalen Verhältnisse

innerhalb der Zellen zu erhalten, bietet sich die Rekonstruktion aus Serienschnitten an. Eine Technik, die in unserem Labor schon seit 1972 (Schötz et al. 1972) benützt wird, und mit der auch schon **Polytoma** untersucht wurde (Gaffal & Kreutzer 1977; Gaffal 1978; Gaffal & Schneider 1978;1980a,b; Gaffal et al. 1982;1983)

Eines der Ziele der neu aufgenommenen Experimente an **Polytoma** war es, nun auch die kurzlebigen und deshalb nur äußerst selten erfaßten Entwicklungsstadien d.h. Mitosestadien einer Untersuchung zuzuführen. Dafür mußte eine Methode entwickelt werden, die zu einer Präparation führte, in der die seltenen Stadien gehäuft enthalten waren. Die weitgehende Synchronisation der Entwicklung aller Individuen einer Kultur, wie sie durch alternierende Anwendung zweier Temperaturen an **Polytomella agilis** (Cantor & Klotz 1971) möglich ist, erwies sich dafür als weit weniger geeignet, als die mechanische Trennung von Zellen nach ihrer Größe. Große Zellen bzw. Sporangien, in denen mit einer höheren Wahrscheinlichkeit gerade Mitose und Cytokinesevorgänge ablaufen, wurden durch eine Filtration der Zellsuspension angereichert. Das Filtrationsprinzip leitet sich von dem Verfahren ab, mit dem Gealt & Weeks (1980) beim Phytoflagellaten **Chlamydomonas** ungepaarte von gepaarten Gameten trennen.

Im Mittelpunkt der Untersuchung sollte eine möglichst detaillierte qualitative und quantitative Analyse des Mikrotubulininventars in verschiedenen Entwicklungsstadien von **Polytoma** stehen. Voraussetzung dafür war eine Präparation, die eine optimale Identifizierung der Mikrotubuli erlaubte. Zur verbesserten Darstellung von Strukturen wie den Mikrotubuli im Elektronenmikroskop wird eine Gerbsäurebehandlung empfohlen, die entweder zusammen mit der Fixierung durch Glutardialdehyd vorgenommen werden kann (Futaesaku et al. 1972), oder sich an die Fixierung mit Osmiumtetroxid anschließt (Simionescu & Simionescu 1976). Letzteres führte bei **Polytoma** zum Erfolg.

Eine wertvolle Ergänzung der quantitativen Daten zu den Mikrotubuli stellte die parallel dazu aus den gleichen Schnittserien vorgenommene morphometrische Bestimmung einiger Zell- und Kernparameter dar. Damit wurden sowohl bezüglich der Methode entsprechende Untersuchungen an **Polytoma** (Gaffal et al. 1982) weitergeführt als auch inhaltlich vervollständigt.

3. Vorbemerkungen zu den Themenbereichen der Untersuchung

Im folgenden sollen die Voraussetzungen und Ziele, die bei der Aufnahme der Experimente gegeben waren, umrissen werden.

3.1. Der Basalkörperkomplex

Während der Interphase umfassen die Geißelapparate von Phytoflagellaten Flagellen, Basalkörper und mit ihnen assoziierte Strukturen. Informationen über den Aufbau des Geißelapparates bei Grünalgen finden sich in Übersichtsartikeln (Moestrup 1978; Melkonian 1980a; 1982). Darüber hinaus existieren noch Einzelbeschreibungen folgender Autoren: Herth et al. (1981), Hoops et al. (1982), Hoops & Floyd (1983), Melkonian & Berns (1983), O`Kelly & Floyd (1983), Roberts et al. (1981, 1982), Salisbury et al. (1981), Sluiman et al. (1982) und Sluiman (1983). Diese Untersuchungen konzentrieren sich auf stammesgeschichtliche Aspekte, die sich aus dem Strukturvergleich der Geißelapparate ergeben. Nur ausnahmsweise (Hoops & Floyd 1983) oder beiläufig im Zuge von Mitosebeschreibungen (z.B. Johnson & Porter 1968; Triemer & Brown 1974; Marano 1976; Floyd 1978) geht man auf entwicklungsbedingte Veränderungen am Geißelapparat ein. Eine diesbezügliche Bearbeitung von *Chlamydomonas* (Cavalier-Smith 1974) ist zwar ausführlicher, jedoch wird nur eine grobe Zuordnung der Entwicklungsstadien des Geißelapparates zu den Phasen des Zellzyklus vorgenommen. Dagegen existieren von Metazoenzellen bereits ausführliche Angaben über das Schicksal der Basalkörper während des Zellzyklus (Robbins et al. 1968) oder während der Mitose (Zeligs & Wollman 1979). So wie dort und zur Vervollständigung schon vorhandener Daten über *Polytoma* (Gaffal 1977; Gaffal & Schneider 1980b) sollten die morphogenetischen Veränderungen des Geißelapparates während des Zellzyklus dieses Phytoflagellaten intensiver verfolgt und darüber hinaus die Zusammensetzung bestimmter Strukturkomponenten geklärt werden.

Da bei *Polytoma papillatum* die mütterlichen Flagellen während der Mitose verloren gehen (Gaffal 1977), die Basalkörper und einige der assoziierten Strukturen jedoch Kontinuität zeigen, erschien es sinnvoller, bei der Beschreibung der lebenszyklusabhängigen Veränderungen den persistierenden Elementen mehr Bedeutung beizumessen. Aus diesem Grunde wurde der Begriff Basalkörperkomplex (=Basalkörper + assoziierte Strukturen) eingeführt. Geißelapparate stellen demnach eine bestimmte Modifikation der Basalkörperkomplexe dar.

Die Nomenklatur folgt mit der Benennung der den Basalkörper aufbauenden Mikrotubuli von innen nach außen als A- bis C-Tubuli dem Vorschlag von Gibbons & Grimstone (1960).

3.2.Cytoplasmatische Mikrotubuli

Der Zellzyklus ist ein komplexer Prozess, der Mitose, Cytokinese und Cytomorphogenese der Teilungsprodukte umfaßt, wobei jeweils charakteristische Mikrotubulisysteme zu beobachten sind. Als cytoplasmatische Mikrotubuli spricht man generell die in einer Zelle außerhalb des Spindelapparates liegenden Mikrotubuli an. Sie sind möglicherweise universell verbreitet (Porter 1966). Die phasen- und ortsspezifische Anwesenheit bestimmter Mikrotubuli ist bei dem mit **Polytoma** eng verwandten Phytoflagellaten **Chlamydomonas reinhardtii** teilweise bereits bekannt (Gould & Jones 1968; Johnson & Porter 1968).

Die Untersuchung der cytoplasmatischen Mikrotubuli hatte zum Ziel:

1. Die Klärung der Frage, wie weit bezüglich des Inventars cytoplasmatischer Mikrotubuli Gemeinsamkeiten bzw. Unterschiede zwischen **Polytoma** und **Chlamydomonas** existieren.
2. Im Falle von Koinzidenz einige Lücken der frühen Untersuchungen zu schließen.
3. Eine möglichst umfassende quantitative Charakterisierung der Mikrotubulisysteme vorzunehmen.

Betrachtet man einerseits die bei **Polytoma** die Mitose ankündigende Wanderung des Zellkerns zum apikalen Pol (Gaffal & Schneider 1980b) und andererseits die Fülle von Beobachtungen an pflanzlichen und tierischen Zellen, die auf einen kausalen Zusammenhang zwischen Mikrotubuli im Einzugsbereich des Kerns und der Kernwanderung schließen lassen (Ashton & Moens 1982; Bassel et al. 1981; Brawley et al. 1976; Brown & Lemmon 1982; 1983; Deason & O'Kelley 1979; Galatis 1982; Galatis et al. 1983a,b; Girbardt 1968; Gunning et al. 1978; Heath & Heath 1978; Holmes & Choppin 1968; Kiermayer 1968a,b; Lanners 1980; Mar 1980; Meindl & Kiermayer 1982; Nakai & Ushima 1978; Oakley & Morris 1980; Pickett-Heaps & Fowke 1970; Poon & Day 1976; Raudaskoski 1972; Raudaskoski & Koltin 1973; Schatten 1982; Schmiedel & Schnepf 1979; Vogelmann et al. 1981), dann sind auch bei **Polytoma** entsprechende Korrelationen zu erwarten. Wenn gelegentlich in Nachbarschaft zu einer Kernwanderung keine Mikrotubuli gefunden werden (Stevenson 1972; Elliot 1973), ist das vermutlich präparationsbedingt (Lanners 1980).

Während der Cytokinese pflanzlicher Zellen treten Mikrotubulisysteme in Erscheinung, die Pickett-Heaps (1972a) in 2 Typen unterteilt. Der sogenannte Phragmoplast, der sich aus senkrecht zur Teilungsebene verlaufenden Mikrotubuli aufbaut, ist in höheren Pflanzen verwirklicht und bei 3 Algenarten bekannt (**Chara**: Pickett-Heaps 1967; **Coleochaete**: Marchant & Pickett Heaps 1973; **Spirogyra**: Fowke & Pickett-Heaps 1969). Die meisten der übrigen untersuchten Algen besitzen ein parallel zur

Teilungsebene orientiertes und in ihr liegendes Mikrotubulisystem, das als Phycoplast bezeichnet wird (Pickett-Heaps 1972a). Die Untersuchung von **Polytoma** sollte die Anordnung und die Entwicklung der die Cytokinese begleitenden Mikrotubuli aufklären. Nach den Daten, die bereits aus verwandten Arten vorliegen (Johnson & Porter 1968; Marano 1974) war ein typischer Phycoplast zu erwarten. Bei **Chlorella** wurde dieses transitorische Gebilde bereits mit der auch hier eingesetzten Serien= schnittechnik rekonstruiert (Atkinson et al. 1974).

Ein von Mikrotubuli durchzogenes Plasmaareal soll sich gegenüber mikrotubulifreien Bereichen durch erhöhte Stabilität auszeichnen (Porter 1966). Darauf stützt sich die Interpretation besonders der in der Zellperipherie anzutreffenden Mikrotubuli als Elemente eines Cytoskeletts. Wie aus einer früheren Untersuchung von **Polytoma** zu entnehmen ist (Fig.16 in Gaffal & Kreutzer 1977), besitzen die Teilungs= produkte kurz nach der Cytokinese keine eigene Zellwand, die einen Beitrag zur Stabilität der Zelle liefern könnte. In Anbetracht dieser beiden Gesichtspunkte schien sich der Versuch zu lohnen, Tochter= zellen mit und ohne Zellwand in Bezug auf ihr Mikrotubuliinventar zu vergleichen.

3.3.Mitose

Als zentrales Ereignis des Zellzyklus stand die Mitose seit den Anfängen der Zellbeobachtung im Mittelpunkt des Interesses und war 1953 Gegenstand einer Zusammenfassung (Schrader 1953). Mit der Verfeinerung der Möglichkeiten durch die Fortschritte der Licht- und Elektronenmikroskopie vermehrte sich auch der Umfang des aus den Strukturveränderungen ablesbaren Wissens über die Mitose (Nicklas 1971; Bajer & Mole-Bajer 1972; Fuge 1977; Little et al. 1977; Heath 1980; Zimmerman & Forer 1981).

Die Untersuchungen wurden hauptsächlich aus zwei Motiven durchgeführt. Da die Mitosevorgänge von entscheidender Bedeutung für die Verteilung des genetischen Materials auf die Tochterzellen sind, schien die Vermutung berechtigt, daß das daran beteiligte System konservativ organisiert ist. Unter der Voraussetzung, daß kleine Unterschiede zwischen den Organismengruppen gegeben sind, könnte die Mitose als nützlicher Indikator für die phylogenetische Position eines Organismus dienen. (Taylor 1976). Diese Hoffnung hat sich zumindest für Algen nur zum Teil erfüllt (Leedale 1970). Zwar bleibt nach Pickett-Heaps (1974) bei den meisten der tiefer in das System einzuordnenden Organismen die Kernmembran während der Mitose mehr oder weniger erhalten (geschlossene Mitose), wohingegen sie sich bei den höher im System stehenden Organismen weitgehend auflöst (offene Mitose), doch wird

diese Regel sogar innerhalb einer Gattung durchbrochen (Pickett-Heaps & Fowke 1969; McKerracher & Gibbs 1982; Lokhorst & Star 1983).

Der für die vorliegende Studie maßgebende Grund sich der Mitose zu widmen, lag in dem Wunsch, die einzelnen Bewegungsvorgänge näher kennenzulernen. Konzentriert man sich auf die auffälligen Bewegungsphänomene, so läßt sich die Mitose in 3 Stadien zerlegen. In der sogenannten Metakinese (Prophase-Metaphase) sammeln sich die Chromosomen in der Äquatorialplatte. Für die anschließende Annäherung der Chromosomen an die Kernpole haben Inoue & Ritter (1975) den Begriff Anaphase A und für die Kernstreckung den Begriff Anaphase B eingeführt. Das zeitliche und anteilmäßige Verhalten der beiden Prozesse variiert von Zelltyp zu Zelltyp. Für eine cytologische Betrachtung der Mitose sind weitere Begriffe nötig, wie sie z.B. von Oakley & Heath (1978) in Hinblick auf Mikrotubuli zusammengestellt wurden. Interpolare oder kontinuierliche Mikrotubuli erstrecken sich über die ganze Spindel längsachse von Pol zu Pol. Polare Mikrotubuli gehen von einem Kernpol aus und enden entweder ohne deutliche nachbarliche Beziehung zu einem anderen Tubulus frei im Karyoplasma, oder sie treten in enge Beziehung zu einem polaren Tubulus vom entgegengesetzten Pol. Für die letzte Situation hat sich die Bezeichnung überlappende Mikrotubuli eingebürgert. Unter chromosomalen oder wie hier vorgezogen Kinetochor-Mikrotubuli versteht man solche, die vom Kinetochor ausgehen und mehr oder weniger weit zu den Polen führen.

Jetzt können auf der Grundlage der Zusammenfassung von Heath (1981a) die derzeit diskutierten Modelle zur Anaphasebewegung vorgestellt werden. Nach dem Konzept von Inoue & Sato (1967) ist Depolymerisation von Kinetochor-Mikrotubuli für die Anaphase A und Polymerisation von polaren Mikrotubuli für die Anaphase B verantwortlich. Gleiten der Kinetochor-Mikrotubuli z.B. entlang polarer Mikrotubuli (McIntosh et al. 1969) bei der Anaphase A wurde ursprünglich vermutet, ließ sich aber in dieser Form nicht bestätigen. Jedoch könnte, wie aus der Analyse der Spindel von Kieselalgen abgeleitet wurde (Tippit et al. 1977) Gleiten zwischen überlappenden Mikrotubuli von Bedeutung für die Anaphase B sein. Es sollte erwähnt werden, daß weder bei Mikrotubuliauf- und abbauvorgängen noch bei dem Gleitmechanismus gesichert ist, ob den Mikrotubuli nicht nur eine passive Rolle zukommt. So läuft z.B. Anaphase B nach experimenteller Eliminierung der überlappenden Mikrotubuli (Aist & Berns 1981; Kronebusch & Borisy 1981) weiterhin ab und zwar mit erhöhter Geschwindigkeit. Das Konzept von Bajer (1973) stützt sich nicht auf einen Gleitmechanismus, sondern das seitliche Zusammentreten von Mikrotubuli in der Art eines Reiß-

verschlußes ("zippering") soll die Anaphase A verursachen. Die dafür nötige Zahl von wenigstens 2 Mikrotubuli pro Kinetochor ist jedoch bei Pilzen nicht immer gegeben (Heath 1980). In Analogie zur Muskelkontraktion wurden Aktin-Myosin oder davon abgeleitet Aktin-Mikrotubuli-Interaktionen zur Erklärung von Mitosebewegungen vorgeschlagen. Zwar gibt es Hinweise auf die Existenz von Mikrofilamenten während der Mitose (Forer 1978), jedoch sind auch gegenteilige Befunde bekannt (Fuge 1981). Vergleichsweise wenig experimentelle Belege lassen sich für eine Interaktion zwischen Mikrotubuli und der Kernmatrix (Heath 1981a) oder für eine gegenläufige Rotation benachbarter Mikrotubuli (Schulz & Jarosch 1980) anführen.

Wie aus dieser kurzen Übersicht, die die Problematik um die Bedeutung der Mikrotubuli nur andeuten kann, hervorgeht, sind zum einen manche der vorgeschlagenen Modelle nicht auf alle Organismen anzuwenden, zum anderen kann man bei bestimmten Veränderungen des Mikrotubuliinventars nicht entscheiden, ob sie die Bewegungen verursachen (aktiv), oder ob sie sie nur passiv begleiten und eventuell regulieren. Dieses unbefriedigende Fazit nach Sichtung der bisher gesammelten Erkenntnisse zum strukturbezogenen Funktionsprinzip der Mitose bietet den Anlaß, zunächst weitere möglichst quantitative Daten in der Hoffnung zu sammeln, daß damit im vergleichenden Ausschlußverfahren einige strittige Punkte geklärt werden können.

Auf cytologischer Ebene bestehen mehrere Möglichkeiten die Vorgänge während der Mitose zu analysieren. Beobachtungen wurden an lebenden Zellen im Lichtmikroskop (Bajer & Mole-Bajer 1963; Nicklas 1975), an fixiertem Material im Elektronenmikroskop (Heath 1981b), oder mit einer Kombination aus beiden Techniken (Nicklas et al. 1982) durchgeführt. In der beabsichtigten Untersuchung sollte ausschließlich das Elektronenmikroskop zum Einsatz kommen, allerdings auf dem Niveau der Serienschnittechnik, mit deren Hilfe zur Zeit die genauesten quantitativen Daten gewonnen werden können. Derartige Studien beschränkten sich bisher auf die Analyse des Mikrotubuliinventars des Spindelapparates oder bestimmter Teile davon (Brinkley & Cartwright 1971; Church & Lin 1982; Dietrich 1979; Forer et al. 1979; Fuge 1971; 1973; 1974; 1980; Heath 1974; Heath & Heath 1976; Jensen 1982; LaFountain 1976; 1979; LaFountain & Davidson 1980; Lin et al. 1981; Manton et al. 1970; McDonald et al. 1977; 1979; McIntosh & Landis 1971; McIntosh et al. 1975; 1979; 1980; Oakley & Heath 1978; Poon & Day 1976; Roos 1981; Solari 1980; Steffen & Fuge 1982; Tippit et al. 1974; 1978; 1980; 1983; Tippit & Pickett-Heaps 1977). Letzteres gilt vor allem für Zelltypen mit sehr mächtig

ausgebildeten Spindeln.

Die Entwicklung des Spindelapparates und seine Veränderungen während der Mitose von *Polytoma* wurden in Hinblick auf 2 Ziele dokumentiert:

1. Es sollten Kriterien gefunden werden, die es erlauben, bestimmte Konzepte zur Mitose für **Polytoma** zu akzeptieren oder auszuschließen.
2. Es sollte versucht werden, zwischen aktivem und passivem Verhalten der Mikrotubuli zu entscheiden. Dazu war es nötig, auch Daten zur Kerngestalt zu erheben.

II Material und Methoden

1. Biologisches Material

Als Untersuchungsobjekt diente der in unserem Labor in Dauerkultur gehaltene Phytoflagellat **Polytoma papillatum** aus der Klasse der Chlorophyceae, Ordnung Volvocales, Familie Chlamydomonadaceae (Von Denfer u.a. 1983). Der Organismus entstammt der Kultur *Polytoma papillatum* spp. 62-3 (E.G. Pringsheim 1954, Germany, Solling; formerly *P. mirum* nom. nud.; medium 13) aus der Sammlung von Algenkulturen des Pflanzenphysiologischen Instituts der Universität Göttingen (Schlösser 1982). Er wurde von H. Ettl (persönliche Mitteilung 1976) als **Polytoma papillatum** bestimmt (vergl. auch *Polytoma papillatum* Pascher 1927 in: Ettl u.a. 1983).

2. Anzucht

Das Nährmedium enthielt im Liter deionisierten Wassers folgende Substanzen: 1g Bacto Tryptone (Diffco-Laboratories, Detroit)

1g Hefeextrakt (Merk, Darmstadt)

2g $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (Merk, Darmstadt)

Sterilisation erfolgte durch 30minütiges Autoklavieren bei 393°K (120°C) und ca. 2 bar.

Die Zellen für die Präparation A kamen aus einer einwöchigen Anzucht bei Raumtemperatur im Dunkeln in 250ml Fernbachkolben. Um für die Präparation B Kulturen mit maximaler Teilungsaktivität zu erhalten, wurden in 5 Liter fassenden Rundkolben 2,6 Liter Medium mit 400ml Zellsuspension versetzt und bereits, nachdem sie 24 Stunden im Brutschrank bei 298°K (25°C) gehalten worden waren, für die Einbettung verwendet.

3. Fixierung

3.1. Materialien

Cacodylatpuffer (50mM, pH 7,4):

Nach dem Auflösen von 1,07g $(\text{CH}_3)_3\text{As}(=\text{O})\text{ONa}$ (Merk, Darmstadt) in 100ml deionisiertem Wasser mußte mit HCl auf pH 7,4 eingestellt werden.

Osmiumtetroxidstammlösung (4%):

200mg kristallines Osmiumtetroxid (Merk, Darmstadt) wurden mindestens 4 Tage vor der Verwendung in einem Glasschliffgefäß in 5ml Aqua bidest. gelöst und bei 4°C aufbewahrt.

Cacodylatpuffer mit 5% Glutardialdehyd:

Die Mischung von 1,6 Liter Puffer und 400ml 25%iger Glutardialdehydlösung (Merk, Darmstadt) führte zu den gewünschten Lösungen.

Einbettungsmittel:

Als Einbettungsmittel fand das von Spurr (1969) in der für den mittleren Härtegrad angegebenen Zusammensetzung frisch zubereitet Verwendung.

Zum Abernten wurden die Zellen aus der Kulturflüssigkeit bei ca. 4000 Umdrehungen/Minute 5 Minuten lang in der Christ Zentrifuge (Präparation A) oder Variofuge (Präparation B) abzentrifugiert. Bei den anschließenden Präparationsschritten (Fixierung, Entwässerung und Einbettung) in 10ml Zentrifugengläschen genügte eine Zentrifugationsdauer von 3 Minuten. Das für jeden Präparationsschritt erforderliche Aufschlämmen der Zellen erfolgte über wiederholtes Einsaugen und Ausdrücken von Pasteurpipetten.

3.2.Präparation A

Von der Osmiumtetroxidstammilösung wurden 2,5ml mit 0,4ml 25%iger Glutardialdehydlösung versetzt und auf 10ml mit Cacodylatpuffer aufgefüllt. Diese Mischung, die 1% Osmiumtetroxid und 1% Glutardialdehyd enthielt, diente zur zweistündigen Vorfixierung. Nach dreimaligem Waschen in Cacodylatpuffer gelangte eine einprozentige Osmiumtetroxidlösung bei der Nachfixierung zur Anwendung. Diese beiden Fixierungsschritte erfolgten im Eisbad. Dem dreimaligen Waschen mit Puffer folgte bei Raumtemperatur eine einstündige Nachbehandlung mit einprozentiger Gerbsäure.

3.3.Präparation B

Die Tatsache, daß Mitosen nur in sehr großen Zellen und Sporangien stattfinden, war die Voraussetzung dafür, daß die sehr kurzlebigen und deshalb nur selten auffindbaren Mitosestadien überhaupt angereichert werden konnten. Dazu war es nötig einen Filtrationsschritt in den Präparationsgang einzufügen. Das Zusammenkippen von 3 Liter zellhaltigem Medium und von 2 Liter Cacodylatpuffer, der 5% Glutardialdehyd enthielt, ergab die Endkonzentration von 2% Glutardialdehyd. Beim portionsweisen Abzentrifugieren in 100ml fassenden Zentrifugenbechern wurden nach den Abgießen des Überstandes die Zellen im Bodensatz immer wieder mit frischer Zellsuspension aufgewirbelt. Dieser Arbeitsschritt beanspruchte ca. 1 1/2 Stunden. Dementsprechend ist diese Zeitspanne als Dauer der Vorfixierung anzusehen. Der nach der letzten Zentrifugation in 300ml Cacodylatpuffer aufgenommene Bodensatz passierte unter leichten Sog einer Wasserstrahlpumpe 6 in einer Nutsche übereinandergelegte Nylonfilter mit der Maschenweite 10µm (Reichert Chemie, Heidelberg). Dem Abspülen der von den Netzen zurückgehaltenen Zellen mit Puffer folgten 3 weitere Waschschrte und danach die zweistündige Fixierung in 2%, eine 12-stündige in 4% Osmiumtetroxid (beide im Eisbad) und eine einstündige Nachbehandlung in 2% Gerbsäure bei Raumtemperatur.

4. Entwässern und Einbetten

Die folgenden Vorgänge waren für beide Präparationen identisch. Nach Entwässerungsschritten in 50%, 2 x 70%, 90%, 2 x 100%igem Ethanol und 2 x in Propylenoxid wurde das Zellmaterial in eine 1:1 Mischung aus Propylenoxid und Spurr-Medium überführt und in Zentrifugenröhrchen im heavy duty rotator (Bachofer, Reutlingen) eine Stunde im verschlossenen und ca. 10 Stunden im offenen Zustand gedreht (ca. 8 Umdrehungen/Minute), so daß das bei Raumtemperatur flüchtige Propylenoxid entweichen konnte. Zweimaliger Ersatz des Einbettungsmittels durch reines Spurr-Medium und jeweils einstündiges Einwälen der Objekte mittels Rotation schlossen sich an. Ein Tropfen des bei der anschließenden Zentrifugation gewonnenen Pellets wurde in Gelatine kapseln (G.Pohl-Boskamp, Hohenlockstedt) gegeben, die bereits einen Tropfen reines Medium enthielten. Nach dem Auffüllen mit reinem Kunststoff beschleunigte der achtsündige Aufenthalt der Kapseln in einem auf 333°K (60°C) gehaltenen Trockenschrank das Polymerisieren.

5. Herstellung der Schnittserien und Elektronenmikroskopie

Spülen mit warmen Wasser befreite die ausgehärteten Blöcke von der Gelatine. Nach dem Fräsen der getrockneten Blöcke in der Trimmvorrichtung TM 60 (Reichert, Wien) waren am objekthaltigen Ende der Blöcke Pyramidenstümpfe entstanden, deren Anschnittflächen die Kantenlängen 100 und 200 µm hatten. Der Neigungswinkel der Pyramidenseiten betrug 48°. Das Ultramikrotom OmU2 (Reichert, Wien) war mit Glasmessern bestückt, die unter Verwendung des knife maker's und der Kunststofftröge von LKB (Stockholm-Bromma) gefertigt worden waren.

Beim Schneiden waren die zugespitzten Blöcke mit der langen Seite der rechteckigen Anschnittfläche parallel zur Messerkante orientiert. In der Regel gelang es beim Schneiden Bänder herzustellen, bei denen die Schnitte an ihren Längsseiten aneinander hafteten. Von den je nach Schnittgröße in Stücke zu 10 - 30 Schnitte aufgeteilten Bändern fanden im Idealfall 3 parallel zueinander auf kupfernen Grids (VECO, Solingen) mit Löchern der Größe 1 x 2mm Platz.

Die Grids waren mit einer aus Pioloform F (Wacker Chemie, München) hergestellten Trägerfolie bespannt. Die Stärke der aus einer Stammlösung (1,5% in Chloroform) auf übliche Weise (Ruthmann 1966) hergestellten Folien war aus der Interferenzfarbe zu bestimmen. Nur "goldene" Folien fanden Verwendung.

Das Glätten der beim Schneidevorgang gestauchten Schitte erfolgte mittels eines kurz in geringer Höhe über die Wasseroberfläche im Trog gehaltenen Filterpapierstreifens, der vorher in Xylol getaucht worden war.

Eine zu einer Spitze ausgezogene Teflonfolie mit einer Pasteurpipette als Halterung diente zur Manipulation der Schnitte auf der Wasseroberfläche.

Nach dem Trocknen der Schnitte gelangten der Gridhalter und die Färbeschälchen des Hiraoka staining kits (Polysciences, Paesel GmbH&Co, Frankfurt) beim Nachkontrastieren zum Einsatz. Einer Behandlung für 5 Minuten in einer 10%igen Lösung von Uranylacetat in Methanol, zweimaligem Waschen in Methanol und jeweils einmal in einem 1:1 Gemisch aus Methanol und Aquabidest, folgte dann eine bis zu 10 Minuten lange Kontrastierung in einer 0,2%igen Bleicitratlösung (Venables & Coggeshall 1965) in einem Exikator im Stickstoffstrom.

Für die Elektronenmikroskopie stand ein Zeiss EM 10 (Zeiss, Oberkochen) zur Verfügung. Agfa Ortho Planfilm (6,5 x 9cm) diente als Aufnahme-material. Querschnittserien von Kernen wurden bei einer Primärvergrößerung von 20800 oder 25800:1 aufgenommen und sekundär um den Faktor 4,5 vergrößert. Bei Kernlängsschnitten und ganzen Zellen betrug die Primärvergrößerung mindestens 2,5 höchstens 3,7. Die verwendete Papiersorte war Agfa Brovira BN1/3 und für die Aufnahmen nach cytochemischen Behandlungen BEH1/5.

6. Präparation für die cytochemische Untersuchung

Über die für konventionelle Ultrastrukturforschung verwendeten Einbettungsmittel wird berichtet, daß sie sich zur enzymatischen Extraktion von Zellbestandteilen aus Schnitten aus diesem Material nicht eignen. Dafür wird auf hydrophile Harze auf Glycolmethacrylsäurebasis verwiesen (Douglas 1970). Um in der beabsichtigten Untersuchung den Einsatz von Nukleasen zur spezifischen Extraktion von RNA zu ermöglichen gelangte ein solches Harz in folgender Zusammensetzung zur Anwendung (alle Chemikalien von Serva, Heidelberg):

70,0g Methacrylsäurehydroxyester (Glycolmethacrylat)

25,5g Methacrylsäurebutylester

5,5g Methacrylsäuremethylester

Das Abtrennen eines Stabilisators gelang durch zweistündiges Bewegen der Mischung über Ionenaustauschharz Amberlyst A-26 und anschließendes Abnutschen über einem Papierfilter. Die Flüssigkeit wurde nach Zugabe von 10mg Azoisobutyronitril nochmals 12 Stunden gerührt, in einem 2 Liter fassenden Erlenmeyerkolben filtriert und über der Bunsenbrennerflamme bis zur Schlierenbildung geschwenkt (Prepolymerisation nach Leduc & Bernhard 1967). Auf das Abkühlen im Eisbad folgte die Lagerung im Kühlschrank bei ca. 277°K (4°C). Entwässert wurden die fixierten Zellen (1% Glutardialdehyd in 50mM Cacodylatpuffer pH 7,4, bei Raumtemperatur)

nach 2 Waschschritten mit Puffer in Wasser-Glycolmethacrylat-Gemischen und in reinem Glycolmethacrylat:

- 2 x 70% 5 Minuten
- 1 x 80% 10 Minuten
- 1 x 90% 10 Minuten
- 1 x 100% 30 Minuten

Die Überführung des Zellmaterials in Glycolmethacrylat-Einbettungsmittel im Verhältnis 1:1 und nach 10 Minuten in reines Einbettungsgemisch vervollständigten den Entwässerungsvorgang. Nach zwölfstündigem Drehen im heavy duty rotator wurde die zellhaltige Flüssigkeit in Gelatinekapseln einpipettiert. Zur 48-stündigen Polymerisation dienten UV-Lampen (TL 40/08 RS, λ_{max} 366, Philips, Eindhoven), die ca. 10cm über den Kapseln angebracht waren. Geschwundenes Harz mußte nach 24 Stunden ergänzt werden.

Mit der herkömmlichen Methode (5) ließen sich von den gewonnenen Blöcken keine brauchbaren Schnitte herstellen. Erst nachdem die zu einem Pyramidenstumpf zugespitzten Blöcke in Spurr-Medium eingegossen und erneut zugetrimmt worden waren, erhielt man großflächige, aber brauchbare Schnitte.

Die Nachkontrastierung erfolgt nach Bernhard (1969) mit den Bestandteilen des Hiraoka staining kids:

- 1 Minute in 0,5% Uranylacetat in Aqua bidest.
- 2 Minuten in 0,02% EDTA (Ethylentetraminessigsäure Na-salz)
- 1 Minute in Bleicitrat (Venables & Coggeshall 1965)

Zur Extraktion von RNA aus den Schnitten diente 0,1% RNase aus Rinderpankreas (E.C. 3.1.27.5, Boehringer, Mannheim). Die Nuklease war dafür in Aqua bidest. gelöst, das 0,003M an MgSO_4 war und mit 0,01N NaOH auf pH 6,8 eingestellt war. Der zwölfstündigen Inkubation im Trockenschrank bei 310°K (37°C), dem Spülen mit Wasser und dem Trocknen folgte die Kontrastierung nach Bernhard (1969) im gleichen Arbeitsgang mit den nicht enzymbehandelten Schnitten.

7. Auswertung der Schnittserien

7.1. Rekonstruktionen mittels graphischer Methoden

In Querschnittserien durch Mitosekerne verlaufen die Mikrotubuli vorwiegend senkrecht zur Schnittrichtung. Für die Auswertung wurden die Positionen aller Mikrotubuliprofile eines Schnitts auf transparente Polyesterfolie übertragen und numeriert. Das Übereinanderlegen aufeinanderfolgender Skizzen in räumlich korrekter Orientierung erlaubte die Registrierung weiterhin vorhandener, verschwundener und neu aufgetretener Mikrotubuliprofile. Aus der Protokollierung dieser Ereignisse entlang der ganzen Serie lassen sich die Lage der Mikrotubuli und ihre Längen ermitteln.

Bei Schnittserien durch ganze Zellen und bei Kernlängsschnitten wurde auf eine quantitative Auswertung der Tubulilängen verzichtet, weil diese, wenn überhaupt, nur nach einer unvertretbar hohen Sekundärvergrößerung möglich gewesen wäre. Die Analyse der Anordnung der Mikrotubuli erfolgte hier über die Projektion aller Mikrotubuliprofile auf eine Ebene. Dazu war zuerst nötig, von jedem Schnitt das Zell-, Kernprofil oder beide als Orientierungshilfe sowie die Mikrotubulisilhouetten graphisch auf transparente Polyesterfolie zu übertragen. Die 80 bis 150 Folienzeichnungen aus jeder Schnittserie wurden passgenau übereinander geschichtet und in dieser Lage fixiert. Die im Durchlicht (Leuchtpult) gut erkennbaren Mikrotubulikonturen (schwarze Striche) des ganzen Folienstapels oder des in mehrere Teile zerlegten Stapels wurden nun in ihrer Gesamtheit in eine Zeichnung übertragen.

7.2. Modellbau

Die Anfertigung maßstabsgetreuer Modelle von bestimmten Entwicklungsstadien hatte den Vorteil einige Aspekte der Veränderung von Zell- und Kernform während des Zellzyklus anschaulich darstellen zu können. Die für diesen Zweck und die morphometrischen Bestimmungen (7.3) nötige Ermittlung der durchschnittlichen Schnittdicke der Serienschnitte erfolgte nach zwei verschiedenen Verfahren, die zum gleichen Ergebnis führten:

1. Bei einem sphärischen Körper wie er z.B. bei einem Interphasekern vorliegt, ergibt die Teilung des Durchmessers durch die Anzahl der Schnitte, die für die vollständige Erfassung der Kugel nötig sind, die mittlere Schnittdicke ($\bar{d}$).

2. Auch über die Formel:

$$\bar{d} = \frac{(\bar{CD} - \bar{AB})}{2 \times n \times \tan \alpha} \quad (\text{Arnold \& Gaffal 1979})$$

ist der gesuchte Wert zugänglich.

Dabei sind: $\bar{CD}$ = Kantenlänge der Schnittfläche nach Abtragen einer bestimmten Zahl von Schnitten

$\bar{AB}$ = ursprüngliche Kantenlänge der Anschnittfläche

n = Zahl der abgetragenen Schnitte

α = Neigungswinkel des Pyramidenstumpfes.

Der Maßstab (1:23500) für die Modelle ergab sich aus dem Verhältnis der mittleren Schnittdicke (0,085µm) zur Dicke der verwendeten Styroporapete (2mm). Da die Zell- und Kernumrisse problemlos zu erkennen waren, konnten sie entsprechend vergrößert in der Dunkelkammer direkt vom Negativ auf die Styroporapete übertragen werden. Mit Hilfe einer Thermo- säge (Fischertechnik, Tumlingen) wurden die Profile dann ausgesägt und mit dem Spezialklebstoff Uhuor (UHU, Bühl) passgenau übereinandergeklebt.

Bei der Begradigung leichter Unregelmäßigkeiten (z.B. überstehende Schnitttränder), die meist auf unterschiedlich stark gestreckte Schnitte zurückzuführen sind, kam wieder die Thermosäge zum Einsatz. Der Ausgleich der methodisch bedingten "Stufung" der Modelloberfläche gelang durch dreimaliges Bestreichen mit dem Füllmaterial Moltotill (Molto GmbH, Löhneberg/Lahn) und dem abschließenden Überzug mit Dispersionsfarbe.

7.3.Morphometrie

Zur Längen- und Flächenmessung stand das halbautomatische Bildanalyse-system MOP-Digiplan (Kontron, München) zur Verfügung. Das Produkt aus der Summe der Schnittflächen eines interessierenden Objekts mit der mittleren Schnittdicke lieferte das Volumen des Objekts. Das Produkt aus der Summe der Umrisse mit der mittleren Schnittdicke führte zur Oberfläche des interessierenden Objekts. Um dabei teilweise schwerwiegende Fehler zu vermeiden, mußten die Oberflächenwerte nach den Angaben der einschlägigen Literatur (Weibel & Elias 1967; Weibel 1979) korrigiert werden.

III Ergebnisse

Die Befunde wurden aus der Untersuchung zweier Präparationen von **Polytoma papillatum** erhoben, die sich im Erhaltungszustand der Zellbestandteile unterschieden. Während Präparation A in jeder Hinsicht zufriedenstellend ausfiel, wies Präparation B Mängel auf. So zeigten sich Risse im Cytoplasma, Leukoplastenmembranen waren nicht erhalten, und die Mitochondrienanschnitte waren vergrößert. Nachdem jedoch die hauptsächlich interessierenden Strukturen (Zell-, Kernmembran und Mikrotubuli) in einer auswertbaren Weise dargestellt waren, wurde diese Einbettungscharge mit verwendet. Kleine Zellen, in denen die genannten Unzulänglichkeiten geringer ausgeprägt waren, wurden bevorzugt. Sie boten zudem den Vorteil, daß sie in kürzeren Schnittserien erfaßt werden konnten.

Beginnend mit der Interphase werden nun die Beobachtungen an den einzelnen Entwicklungsstadien in chronologischer Reihenfolge präsentiert, wie sie sich aus dem Zellzyklus ergibt. Diese Abfolge wird nach der Preprophase unterbrochen, um die an einer jungen Zygote erhobenen Befunde und die Ergebnisse aus cytochemischen Untersuchungen einzuschieben. Graphiken und Rekonstruktionen (**Abb.**) und Tabellen (**Tab.**) werden jeweils in den Text eingefügt. Elektronenmikroskopische Aufnahmen (**Fig.**) werden in einem Anhang zusammengefaßt.

1. Interphase

1.1. Basalkörperkomplex

Die Papillenregion der Interphasezelle (Fig.1) enthält den Basalkörperkomplex. Er besteht im wesentlichen aus 4 Basalkörpern und einer Reihe von Komponenten, die als assoziierte Strukturen zusammengefaßt werden. Von Letzteren springen besonders die sogenannten Wurzelfasern ins Auge. In der vereinfachten Darstellung des Basalkörperkomplexes (Abb.1) sind der besseren Übersichtlichkeit halber nur die Basalkörper und die Wurzelfasern berücksichtigt. Weitere Strukturdetails werden jeweils unter Verweis auf belegende elektronenmikroskopische Aufnahmen abgehandelt.

Die Längsachsen der beiden flagellentragenden Basalkörper (Länge: ca. 300nm) schließen einen Winkel von ca. 140° ein; sie liegen jedoch nicht in einer Ebene sondern in zwei zueinander parallelen Ebenen, die um einen halben Basalkörperdurchmesser gegeneinander versetzt sind (vgl. Fig.2b;10). Oberhalb der flagellentragenden Basalkörper initiieren 4 Wurzelfaserzüge, die im wesentlichen aus Mikrotubuli bestehen, und wie die Schenkel eines X angeordnet sind. Je zwei und zwar einander gegenüberliegende Wurzelfasern enthalten 2 (Fig.2b,c) bzw. 5 Mikrotu=

buli. In einer Entfernung von ca. 200nm von den flagellentragenden Basalkörpern liegen zwei zusätzliche Basalkörper im kleineren Schenkel (Winkel ca. 50°) zwischen den Wurzelfaserzügen. Sie befinden sich dabei in unmittelbarer Nähe der kleineren Wurzelfasern (Fig.2b,c).

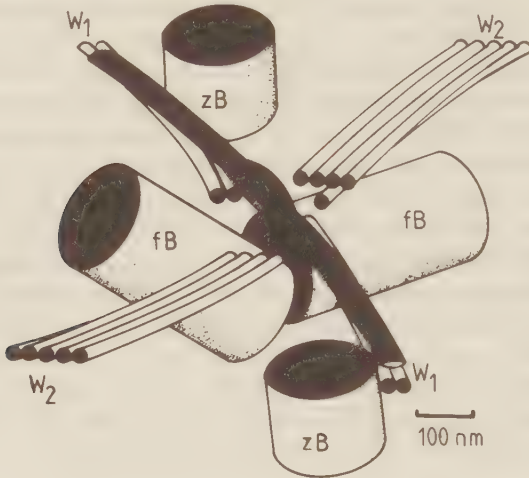


Abb.1: Vereinfachte Darstellung des Basalkörperkomplexes während der Interphase. Rekonstruktionen dieser Art basieren auf der quantitativen Analyse meist mehrerer Schnittserien durch den entsprechenden Bereich mit unterschiedlich geführter Schnittebene. Flagellentragender Basalkörper (fB), zusätzlicher Basalkörper (zB), kleine Wurzelfaser (W_1), große Wurzelfaser (W_2).

Das Lumen der zusätzlichen Basalkörper ist auf ganzer Länge (90-120nm) von der sogenannten Wagenradstruktur durchzogen (Fig.3b). 5nm dicke, im Basalkörperquerschnitt faserartig erscheinende Strukturen verbinden dabei wie die Speichen eines Rades einen zentralen Zylinder (Außendurchmesser: ca. 24nm) mit dreieckigen Fortsätzen der A-Tubuli.

An den distalen Enden der flagellentragenden Basalkörper, in denen auf ganzer Länge keine Wagenradstruktur nachzuweisen war, inserieren 9 stark kontrastierte Strukturelemente, die im Profil etwa die Form eines rechtwinkligen Dreiecks aufweisen. Der kurze Schenkel des rechten Winkels liegt den Triplett an. Der lange Schenkel (ca. 100nm) ist zum Plasmalemma hin gerichtet. Diese Strukturen sind mit denen vergleichbar, die auch in der Prophase angetroffen wurden (vgl. Fig.37b). Etwas unter-

halb dieser Fortsätze sind die flagellentragenden Basalkörper durch eine Brücke verknüpft, die durch ihre bilateralsymmetrische Querstreifung (Fig.2a) charakterisiert ist ("striated connexion"). Zwischen den proximalen Enden der flagellentragenden Basalkörper ist eine querge=streifte Struktur zu entdecken, die die Form eines spitzen Dreiecks besitzt (Fig.6b). Der lange Schenkel tangiert das proximale Ende des einen Basalkörpers, und der kurze Schenkel liegt offensichtlich dem proximalen Ende des zweiten Basalkörpers an.

Unterhalb der "striated connexion" entspringen die Mikrotubuli der Wurzelfasern in amorpher Substanz, bleiben noch 1-2 Tripletts weit mit dem Basalkörper in Kontakt und entfernen sich dann direkt unterhalb der Plasmamembran verlaufend aus der apikalen Region. Die Mikrotubuli der kleineren Wurzelfasern sind in ca. 25 nm Abstand von ca. 25nm dicker homogener Substanz in unbestimmter Länge überlagert (Fig.4). Auf Schnitten durch den Basalkörperkomplex, in denen die kleinen Wurzelfasern längs getroffen sind, wird sichtbar, daß dieses aufgelagerte Material den Basalkörperkomplex ohne Unterbrechung durchzieht. Dabei gabelt es sich in zwei Stränge unterschiedlicher Dicke auf. Das dünnere Element (ca. 7nm) verläuft geradlinig, während das dickere (ca. 10nm) einen nach apikal gerichteten Bogen beschreibt (Fig.5b). Bei dieser Gelegenheit kann auch auf 1-3 Fortsätze auf etwa halber Höhe der Basalkörper eingegangen werden. Sie stehen offensichtlich senkrecht auf der Ebene, in der sich die Längsachsen der Basalkörper befinden, und führen in einer Dicke von ca. 7nm und einer Länge von 60-180nm in das Cytoplasma (Fig.5a,c).

Die 5 Mikrotubuli der großen Wurzelfaser entspringen in einer 4 über 1 Anordnung über dem proximalen Ende eines flagellentragenden Basalkörpers (Fig.7). Diese Anordnung wird über eine Länge von ca. 300nm beibehalten, danach findet man 5 nebeneinander liegende Tubuli (Fig.8). Auf etwa gleicher Höhe endet auch das dichte Material, das bis dahin zwischen und unterhalb der Mikrotubuli vorgefunden wurde, und das mit einer Periodizität von ca. 45nm gestreift ist. Als Ausnahmefall enthielt in einem der untersuchten Basalkörperkomplexe die große Wurzelfaser nur 3 nebeneinanderliegende Mikrotubuli (Fig.9).

1.2.Mikrotubulsysteme

Die in der Interphase vorwiegend längs orientierten Mikrotubuli wurden in das corticale und das zentrale Mikrotubuliinventar eingeteilt. Die corticalen Mikrotubuli inserieren seitlich von den Basalkörpern und in unmittelbarer Nähe zu den Wurzelfasern (Fig.10), die ihrerseits ebenfalls zu den corticalen Mikrotubuli gezählt wurden.

Ein Teil der zentralen Mikrotubuli entspringt an dem den Basalkörpern unterlagerten Material, das auf der Höhe der proximalen Enden der flagellentragenden Basalkörper maximale Dichte aufweist (Fig.1) und stellenweise geschichtet erscheint (Fig.7). Der andere Teil inseriert unterhalb davon an kleinen (20-30nm) Anhäufungen amorphen Materials (Fig.11a,b). Neben diesen mikrotubuliassoziierten Ansammlungen amorphen Materials existieren seitlich und unterhalb des Basalkörperkomplexes etwa kugelförmige, aber etwas voluminösere (Durchmesser: ca. 40nm) Konglomerate aus amorphem Material (Fig.5a,b,c;11b;15,16). In einer adulten Interphasezelle wurden ungefähr 30 dieser Konglomerate gezählt.

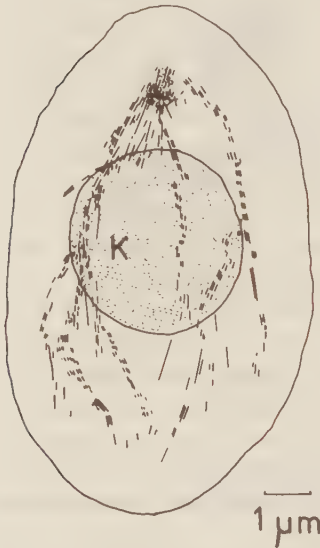


Abb. 2: Rekonstruktion des zentralen Mikrotubuliinventars einer adulten Interphasezelle aus einer Längsschnittserie. Alle Mikrotubuliprofile sind in eine Ebene projiziert. Als Umriss sowohl für die Zelle als auch für den Kern dient jeweils das Profil des flächenmäßig größten Anschnitts. Der Kern (K) ist punktiert hervorgehoben. Diese Darstellungsweise wird auch in den folgenden Rekonstruktionen beibehalten.

Zwei adulte Interphasezellen wurden hinsichtlich des Mikrotubuliinventars quantitativ ausgewertet. Eine Längsschnittserie lieferte Befunde zum Verlauf der zentralen Mikrotubuli (Abb.2). Aus einer Querschnittserie wurde die "räumliche Dichte" des gesamten Mikrotubuliinventars entlang der Zelllängsachse in Schritten registriert, die 0,4µm groß waren (Abb.3). Danach erreicht die Zahl der zentralen Mikrotubuli pro Querschnitt auf halbem Weg zwischen Basalkörperkomplex und Kern ihr Maximum. Mit der darauf folgenden Abnahme dieser Zahl geht eine Gruppierung der Mikrotubuli in Bündel einher, so daß auf Kernhöhe (Fig.12) neben Einzelmikrotubuli Aggregate aus 4-15 Mikrotubuli vorliegen, die sich der äußeren Kernmembran bis auf einen Abstand von ca. 25nm nähern können (Fig.12 Inset). Der Abstand zwischen den Zentren

Mt-anschnitte

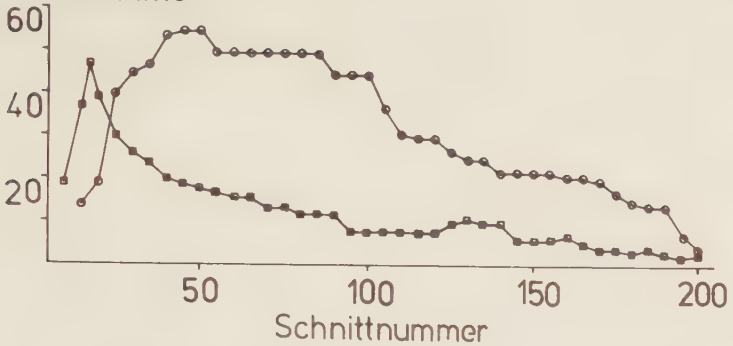


Abb. 3: Auftragung der in Querschnitten durch die Zelle vorgefundenen Anzahl von Anschnitten zentraler (○) und corticaler (□) Mikrotubuli über der Längsachse einer adulten Interphasezelle als Maß für die räumliche Dichte der Mikrotubuli. Die Mikrotubuliprofile wurden in jedem fünften Schnitt d.h. in Intervallen von ca. $0,4\mu\text{m}$ registriert.

benachbarter Mikrotubuli innerhalb eines Aggregates beträgt mindestens 30nm. Auf Höhe des Kernendes ist die Zahl der Mikrotubuliprofile pro Querschnitt bereits um 50% des Maximalwertes gesunken und nimmt von da an bis zum basalen Ende der Zelle weiter kontinuierlich ab. Einzelne Tubuli können an der Zellbasis bis ca. 200nm vor die Zellmembran reichen. Die corticalen Mikrotubuli nehmen von der Basalkörperbasis zum Zellende über eine Länge von ca. $1,3\mu\text{m}$ zu. Ihre "räumliche Dichte" fällt dann genau so steil wie der vorausgegangene Anstieg ab. Nach ca. $3\mu\text{m}$ wurden weniger als 50% der maximalen Mikrotubulizahl registriert. Danach fiel die Zahl der corticalen Mikrotubuli wesentlich weniger steil ab. Vermutlich läßt sich der leichte Anstieg der "räumlichen Dichte" zu Beginn des basalen Zelldrittels durch den Umstand erklären, daß zentrale Mikrotubuli infolge der Verjüngung der Zelle an die Zellperipherie gelangen und folglich fälschlicherweise den corticalen zugerechnet werden.

2.Preprophase

Der Übergang von der Interphase zum Mitosegeschehen kündigt sich unter anderem durch folgende Veränderungen an:

1. Die Zelle rundet sich zunehmend ab.
2. Der Protoplast löst sich vor allem basal und apikal von der Zellwand ab (Fig. 13).
3. Der Winkel zwischen den flagellentragenden Basalkörpern nimmt ab.

4. Die Form des dem apikalen Zellpol generell näher liegenden Kerns wird zunehmend unregelmäßiger. Die Oberseite des nahezu runden Interphasekerns wird dachartig umgestaltet. Gleichzeitig treten vorwiegend, aber nicht nur (Fig. 13) auf der dem Basalkörperkomplex zugewandten Seite Invaginationen der Kernmembran in Erscheinung.

2.1. Das Mikrotubulsystem der frühen Preprophasezelle

In die Kategorie der frühen Preprophase wurden solche Zellen eingeordnet, in denen der Abstand zwischen Kernspitze und Basalkörperkomplex noch wenigstens $1\mu\text{m}$ betrug, deren Kern aber schon signifikant von seiner sphärischen Interphaseform abwich.

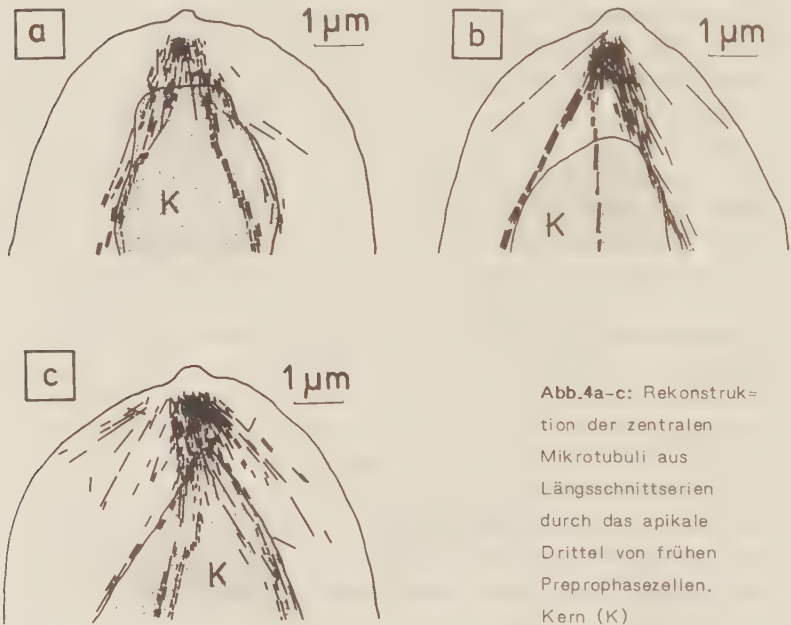


Abb. 4a-c: Rekonstruktion der zentralen Mikrotubuli aus Längsschnittserien durch das apikale Drittel von frühen Preprophasezellen. Kern (K)

Aus Längsschnittserien durch insgesamt 3 Preprophasezellen wurde die Verteilung der Profile des Mikrotubulininventars innerhalb des oberen Zelldrittels rekonstruiert. Es ergab sich kein einheitliches Bild. Obgleich aus verschiedenen Richtungen in eine Ebene projiziert, lassen die Rekonstruktionen in Abb. 4a,b die Existenz von Mikrotubuliaggregaten erkennen, die mit den Interphaseverhältnissen vergleichbar sind, indem sie

sehr nahe (Abstand: bis zu 25nm, Fig.17) an der Kernmembran entlanglaufen. Demgegenüber ist dieses Merkmal in der Rekonstruktion der Abb.4c nicht so eindeutig ausgeprägt. Statt dessen findet man in dieser Zelle vermehrt Einzelmikrotubuli, die zwar auch unterhalb des Basalkörperkomplexes entspringen, aber nicht in Richtung Kern führen, sondern seitwärts in das Cytoplasma ausstrahlen.

Die Zahl der Konglomerate aus amorphem Material, die schon aus der Interphasezelle (1.2.) bekannt sind, beträgt bis zu 150, und sie besetzen vorwiegend eine kranzförmige Region am oberen Zellende. Die Basalkörper liegen unmittelbar über dem Lumen des Kranzes.

Der cytoplasmatische Bereich unterhalb vom Basalkörperkomplex erfährt gegenüber den Verhältnissen der Interphase eine deutliche strukturelle Modifizierung. Mehrere Schichten unterschiedlicher Dicke und Elektronendichte sind zu einem Gebilde in Form einer leicht schüsselförmig gebogenen Scheibe (Höhe: ca. 200nm; Durchmesser: ca. 450nm) zusammengefaßt. (Fig.14). Die konkave Seite liegt der Basis des Basalkörperkomplexes eng an. Von den 5 kontrastreichen Schichten sind die Schichten 1,3 und 5 dicker (ca. 7nm) als die Schichten 2 und 4 (ca. 5nm). Stark kontrastierte kugelförmige Körper (Durchmesser: ca. 120nm) können sowohl in die Schichten eingelagert sein (Fig.15) als auch seitlich davon auftreten. Sie besitzen dann oft die Gestalt einer fast geschlossenen (Fig.16) oder halben Schale (Schalendurchmesser: ca. 150nm) mit einem ca. 70nm dicken Kern. Die schüsselförmige Struktur dient als Ansatzstelle für cytoplasmatische Mikrotubuli.

2.2.Beobachtungen nach Kältebehandlung

Um den Einfluß von Kälte auf das Mitosegeschehen festzustellen wurde der prozentuale Anteil von Preprophasestadien und an Zellen nach Abschluß der Cytokinese in bei Raumtemperatur und bei 278°K (5°C) gehaltenen Kulturen lichtmikroskopisch ermittelt. Die Identifizierung der Preprophasen erfolgte an Hand der tropfenartigen bis runden Zellform und des weiter apikal liegenden Kerns. Als Postcytokinesestadien wurden die Sporangien gewertet, in denen die Tochterzellen in der Mutterhülle erkennbar waren. Aus der Tabelle 1 läßt sich ablesen, daß die Kältebehandlung die Zahl der Preprophasen erhöhte und den Anteil der Postcytokinesestadien erniedrigte. Die Zellen vermehrten sich in der Kälte nur unwesentlich, nämlich von 2×10^5 auf $2,4 \times 10^5 \text{ ml}^{-1}$ (=17%) in 48 Stunden.

Tab.1:

Kulturbedingungen	% Preprophasezellen	% Postcytokinesestadien
Raumtemperatur	6	6
278°K	10	2

Nun galt es, die Frage zu klären, ob die anteilmäßige Zunahme - ein Indiz dafür, daß das Mitosegeschehen temperaturbedingt frühzeitig angehalten wird - mit Veränderungen am Mikrotubuliinventar korreliert ist.



Abb.5a,b: Rekonstruktion der zentralen Mikrotubuli nach Längsschnittserien durch das apikale Drittel von frühen Preprophasezellen nach Kältebehandlung. Kern (K).

Dazu wurde die räumliche Verteilung der Profile der zentralen Mikrotubuli im oberen Zelldrittel zweier solcher Zellen rekonstruiert (Abb.5a,b). Das Verteilungsmuster ähnelt in beiden Fällen dem in Abb.4c dargestellten Muster einer bei Raumtemperatur herangewachsenen Preprophasezelle insofern, als in vermehrtem Maße seitwärts in das Cytoplasma ausstrahlende Einzelmikrotubuli existieren.

Im Basalkörperkomplex und der angrenzenden geschichteten Struktur waren im Vergleich zur Kontrolle keine Veränderungen erkennbar.

2.3.Späte Preprophase

Eine vollständig in Serienschnitte zerlegte Preprophasezelle wurde analysiert. Nachdem diese Zelle nahezu kugelförmig war, und der Abstand zwischen Basalkörperkomplex und apikaler Kernoberfläche weniger als 1µm betrug, wurde dieses Entwicklungsstadium als späte Preprophase eingestuft. Es fiel auf, daß der Kern nicht median lag, sondern zu einer der beiden

großen Wurzelfasern hin verlagert war. Die apikale Kernoberfläche wies eine Furche auf, die sich unter dem Basalkörperkomplex zu einer tiefen Invagination vergrößerte.

2.3.1. Basalkörperkomplex

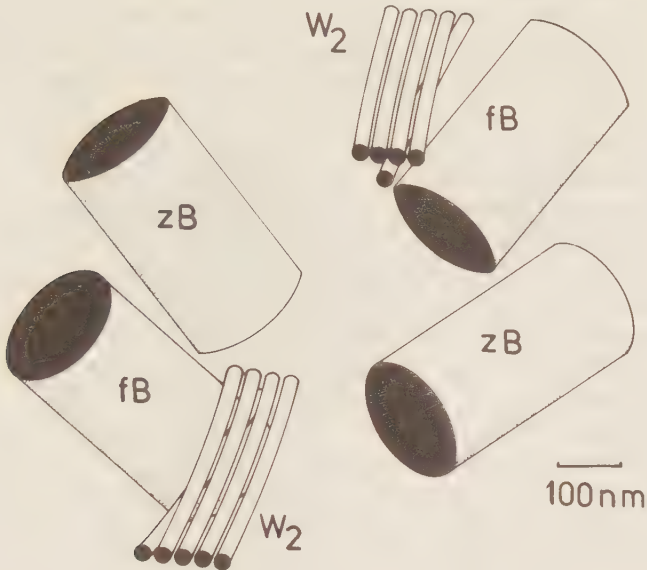


Abb.6: Rekonstruktion des Basalkörperkomplexes einer späten Preprophasezelle. Die Längsachsen der flagellenträgenden (fB) und der zusätzlichen (zB) Basalkörper stehen V-förmig zueinander. Zwei solche Basalkörperpaare liegen vor. Große Wurzelfaser (W_2).

In der späten Preprophase zeigen sich erste Veränderungen im Basalkörperkomplex bezüglich der Länge und der Lagebeziehung der Basalkörper zueinander. Abb.6 versucht die Situation in vereinfachter Form wiederzugeben. Mit dem Verlust der "striated connexion" hat sich der Abstand zwischen den flagellenträgenden Basalkörpern auf ca. 300nm vergrößert. Die kleinen Wurzelfasern fehlen in der Abb.6; sie sind offensichtlich im Begriff sich aufzulösen, da nur noch undeutliche Reste davon auszumachen waren. Dagegen haben sich die ihnen ursprünglich anliegenden zusätzlichen Basalkörper auf ca. 230nm verlängert. Je ein flagellenträger und ein verlängerter zusätzlicher Basalkörper haben sich zu

einem Paar gruppiert, wobei die Längsachsen der Basalkörper des jeweiligen Paares in einem Winkel von ca. 75° stehen. Die beiden somit V-förmig angeordneten Paare besetzen nach wie vor den apikalen Pol der Zelle, dessen ursprünglich deutlich vorspringende Papille jetzt stark abgeflacht ist. Die zusätzlichen Basalkörper stehen in engem Kontakt und senkrecht zur Plasmamembran (Fig.18). Über dem proximalen Ende der flagellentragenden Basalkörper beginnen wie in der Interphase die Mikrotubuli der großen Wurzelfaser in einer 4 über 1 Anordnung. Sie laufen dann allerdings zuerst entlang der Kernoberfläche, entfernen sich aber nach ca. $3,5\mu\text{m}$ wieder davon und nähern sich dem Plasmalemma bis auf 20nm (Fig.19). Der Basalkörperkomplex ist in schwer definierbares Material mittlerer Dichte eingebettet, das proximal bis zur ca. 400nm entfernten Kernmembran reicht. Innerhalb dieser Region treten zusätzlich unregelmäßig gestaltete Ansammlungen stark kontrastierten Materials in Erscheinung.

Das Ende der Preprophase ist erreicht, sobald sich die flagellentragenden Basalkörper auf der Höhe der Übergangsfasern von den Flagellen gelöst haben. Dieser Vorgang wurde an anderer Stelle abgehandelt (Gaffal 1977).

2.3.2. Das Mikrotubuliinventar in der späten Preprophase

Obgleich zum Teil tiefgreifende Veränderungen am Mikrotubuliinventar dieser Zelle (Abb.7) festzustellen waren, wurde weiterhin versucht, die bislang verwendete Einteilung in zentrale(1) und corticale(2) Mikrotubuli beizubehalten. Dies gelang relativ einfach im Fall 1, bereitete jedoch einige Schwierigkeiten im Fall 2.

1. Die auch hier noch vorhandenen Einzelmikrotubuli und Mikrotubuliaggregate, die in dem mit dem Basalkörperkomplex assoziierten dichten Material inserieren, verlaufen nicht mehr vorwiegend innerhalb eines spitzen Kegels, dessen Grundfläche vom Durchmesser des Kerns bestimmt wird. Statt dessen hat der Mikrotubuliverlauf mehr die Form eines stumpfen Kegels angenommen, dessen Grundfläche sehr viel größer als der Durchmesser des Kerns ist. Folglich strahlen Mikrotubuli in vermehrtem Maße seitlich in das Cytoplasma aus, wo sie zwangsläufig mit corticalen Mikrotubuli verwechselt werden.

2. Als Derivate der definitionsgemäß (1.2) corticalen Mikrotubuli waren nur noch die beiden großen Wurzelfasern zu identifizieren. Abweichend von den bisherigen Verhältnissen hat die Zahl von Mikrotubuli, die in einer engen räumlichen Beziehung zu den Wurzelfasern stehen, stark zugenommen. Bedingt durch das einseitige Näherrücken des Kerns an eine der beiden Wurzelfasern existieren bezüglich des räumlichen Musters

der mit den Wurzelfasern assoziierten Mikrotubuli Unterschiede. Im Fall der kernnahen Wurzelfaser ist nur zwischen Kern und Plasmalemma Platz für seitlich von der Wurzelfaser wegführende Mikrotubuli. Im Fall der kernfernen zur Zellperipherie ziehenden Wurzelfaser ist nicht nur seitlich, sondern auch im Raum unterhalb davon Platz. Man findet dort in einem Bündel meist kurzer (ca. $1,5\mu\text{m}$), in spitzem Winkel von der Wurzelfaser divergierender Mikrotubuli, auch längere, basalwärts oder auf den Kern hin ziehende Mikrotubuli. Letztere geraten damit in den früheren Einzugsbereich der zentralen Mikrotubuli.

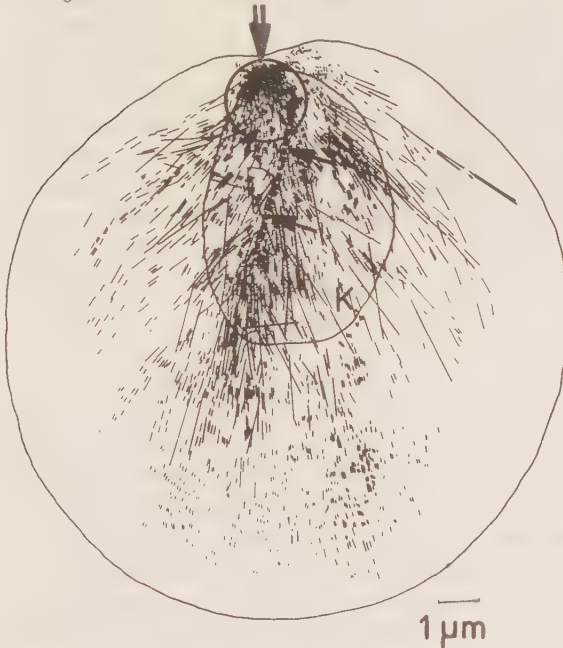


Abb.7: Rekonstruktion des Mikrotubuliinventars einer späten Preprophasezelle. Die kernnahe Wurzelfaser (Pfeile) verläuft etwa parallel zur Schnittebene, die kernferne Wurzelfaser (Doppelpfeil) senkrecht dazu. Deshalb ist die räumliche Ausdehnung letzterer methodisch bedingt

nicht erkennbar. Man beachte die im spitzen Winkel zur kernnahen Wurzelfaser orientierten Mikrotubuli. Der Kreis markiert den proximalen Abschnitt der mit der kernfernen Wurzelfaser assoziierten Mikrotubuli. Kern (K).

3. Junge Zygote

Obgleich nur ca. 2/3 einer jungen Zygote in Serienschnitten erfaßt werden konnten, sind doch einige Angaben möglich. Im Basalkörperkomplex, den assoziierten Strukturen und im darunter liegenden, andeutungsweise geschichteten Material sind im Vergleich zur Interphase keine Unterschiede erkennbar. Die Mikrotubuli verlaufen in dieser Zygote hauptsächlich innerhalb zweier Kegel, deren Grundflächen durch die Durchmesser der Kerne gegeben sind, und deren Spitzen auf die Basalkörper-

komplexe weisen (Abb.8). Der größere Teil der Mikrotubuli ist in der Berührungzone der beiden Kegel, also zwischen den nahezu sphärischen Kernen konzentriert (Fig.20).

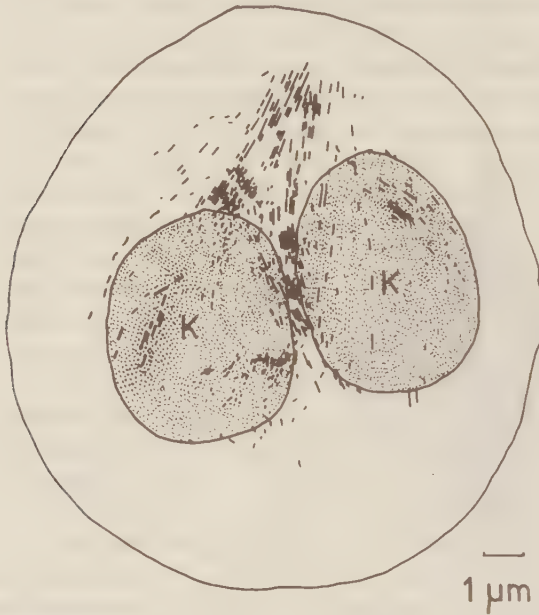


Abb.8: Rekonstruktion des Mikrotubulininventars einer jungen Zygote. Die verwendete Schnittserie umfaßte nicht die ganze Zelle, jedoch waren beide Kerne (K) und ein Basalkörperkomplex enthalten.

In direkter Nachbarschaft zu dieser Zygote wurde ein bemerkenswerter Geißelquerschnitt gefunden, der nicht mit der Zygote in Verbindung stand. Innerhalb einer Geißel mit etwa doppelter Querschnittsfläche (Fig.22) ist ein Zwillingsarrangement vorhanden. Von den insgesamt 18 Doppeltubuli sind 16 so angeordnet, daß der Eindruck einer gestauchten Acht entsteht. Die Zahl der Doppeltubuli auf den beiden jeweils isoliert für sich betrachteten "Achterkreisen" beträgt 9 bzw. 10; d.h. sie besitzen 3 Doppeltubuli gemeinsam. Die 2 überzähligen Doppeltubuli liegen auf einer hypothetischen "Fusionsebene" seitlich der beiden Kreise. Die Ebenen durch die Mitten der zentralen Mikrotubulipaare verlaufen sowohl zueinander als auch zur "Fusionsebene" parallel.

Der gewöhnliche Geißelquerschnitt (Fig.21) enthält die übliche 9+2 Anordnung der Mikrotubuli. Ca. $1\mu\text{m}$ vor der Flagellenspitze enden die peripheren Doppeltubuli und das zentrale Paar führt noch ca. 850 nm weiter.

4. RNA im Basalkörperkomplex ?

Dieser Teil der Untersuchung widmet sich der Frage, ob und in welchen Strukturbestandteilen des Basalkörperkomplexes RNA vorhanden ist. Nach der spezifischen Extraktion der RNA mittels RNase und dem parallelen Einsatz eines Ribonukleoprotein bevorzugt darstellenden Kontrastierverfahrens (Bernhard 1969) sollten das kontrollierte Fehlen bzw. der abgeschwächte Kontrast bestimmter Strukturen als indirekte Indizien für die Existenz von RNA dienen.

Vor der Betrachtung der Ergebnisse sei darauf hingewiesen, daß bei dieser Art der Untersuchung zum einen nur einfach mit Glutardialdehyd fixiert werden durfte, zum anderen Glycolmethacrylat als Einbettungsmittel verwendet werden mußte. Deshalb darf der Erhaltungszustand der Zellstrukturen nicht an dem der anderen Präparationen gemessen werden.

Der Vergleich der Fig.23 mit der Fig.24 zeigt, daß nach der RNasebehandlung keine Ribosomen im Cytoplasma zu erkennen sind, was die Relevanz der Extraktionsmethodik belegt. Soweit auflösbar fehlen jedoch keine Komponenten des Basalkörperkomplexes in den RNase behandelten Schnitten.

5. Mitose

Polytoma papillatum ist zu Mehrfachteilungen befähigt, d.h. innerhalb des Sporangiums laufen hintereinander mehrere Mitosen ab, bevor 2^n (n =Zahl der Mitosen) Tochterzellen entlassen werden. Unter den gegebenen Versuchsbedingungen konnte *Polytoma* maximal 4 aufeinanderfolgende Teilungen durchführen. Am häufigsten wurden Sporangien während des 3. Teilungsgeschehens beobachtet. Die anschließend präsentierten Ergebnisse resultieren aus der Untersuchung von Entwicklungsstadien aus dem 2., 3. und 4. Teilungszyklus. Der Vergleich zwischen ähnlichen Entwicklungsstadien aus Teilungszyklen unterschiedlicher Ordnung zeigte trotz erheblicher Größenunterschiede Identität in Bezug auf den Strukturwandel. Lediglich der Beginn der 1. Teilung ist durch ein eigenständiges Preprophasestadium gekennzeichnet; es wird in den Folgeteilungen nicht mehr durchlaufen.

Die Mitosen höherer Ordnung verlaufen nicht immer exakt synchron. So befanden sich z.B. in einem Sporangium, das die 3. Teilung durchlief, 3 Zellen bereits in der Telophase, während der Entwicklungszustand der 4. Zelle noch alle Charakteristika der frühen Anaphase zeigte. Bezeichnenderweise trug die in der Entwicklung etwas nachhinkende Zelle die mütterlichen inzwischen basalkörperlosen Flagellen. Wie unlängst auch auf elektronenmikroskopischem Niveau bestätigt werden konnte, gehen die mütterlichen Flagellen erst während der Entlassung der Tochterzellen

aus den Sporangien verloren (Gaffal 1977).

Wiederholt wurde beobachtet, daß die Tochterkerne bereits die nächste Mitose in Angriff genommen hatten, noch bevor die der vorangegangenen Mitose folgende Cytokinese abgeschlossen war. Deshalb existieren cytoplasmatische Verbindungen unterschiedlichen Ausmaßes zwischen den Teilungshälften (Fig.25). An der Front der Einschnürung erscheint die Cytoplasmamembran dicker und stärker kontrastiert (Fig.25 Inset).

Um den bei der Durchsicht der Serien gewonnen Eindruck der Formenvielfalt der mitotischen Tochterzellen zu belegen, wurden Modelle zu den Zellformen von drei den 3. Teilungszyklus durchlaufenden Zellen angefertigt. Eine befand sich in der Prophase zwei in der Telophase. Die Prophasezelle (Fig.27) und eine der Telophasezellen (Fig.28) können am ehesten mit einem etwas deformierten Laib Brot verglichen werden. Dagegen weist die zweite Telophasezelle (Fig.29) ein bizarres Äußeres auf. Besonders aus dem Vergleich der beiden Telophasezellen ist ersichtlich, daß die Zellform während der Mitose nicht streng bestimmt ist. Generell ist eine direkte Beziehung zwischen dem Grad an Unregelmäßigkeit in der Zellform und der Ordnungszahl der Mitosen festzustellen.

5.1. Basalkörperkomplex und cytoplasmatische Mikrotubuli

5.1.1. Prophase

Die Prophase ist gekennzeichnet:

1. Von den gegenläufigen Vorgängen der Dispersion des Nukleolus und der Kondensation des Chromatins, die wir (Gaffal, Wolf & Schneider 1983) an anderer Stelle beschrieben haben.
2. Von einer kontinuierlich in Richtung auf eine Spindelform zustrebenden Gestaltsveränderung des Kerns, die in den räumlichen Rekonstruktionen belegt ist (Fig.31;32). Die Asymmetrie der stumpfen Spindelform des frühen Prophasekerns wird noch verstärkt durch eine ca. 1,5µm lange wulstartige Erhebung, die auf der Kernoberseite etwas seitlich von der Äquatorebene und parallel zu ihr entlangzieht. Wie die Fig.26 zeigt, folgt die Zelloberfläche der Kontur dieses Wulstes.

Zu Beginn der Prophase teilt sich der ursprünglich 4 Basalkörper enthaltende Basalkörperkomplex in zwei Hälften, die von nun an als eigenständige Basalkörperkomplexe behandelt werden. Die Tatsache, daß die neugebildeten Basalkörperkomplexe in einer frühen Prophase 2µm und in einer späten Prophase 7,5µm weit voneinander entfernt vorgefunden wurden, belegt ihre Wanderungsaktivität. Dabei bleiben sie sowohl unmittelbar unterhalb der Zellmembran als auch in der Nähe der Kernoberfläche. Letzteres ist nur durch die Formveränderung des Kerns möglich. In der frühen Prophase werden die Kernpole von Basalkörperkomplexen be-

setzt. Dagegen sind die Basalkörperkomplexe in der späten Prophasezelle um ca. 400nm zum Kernäquator hin verschoben.

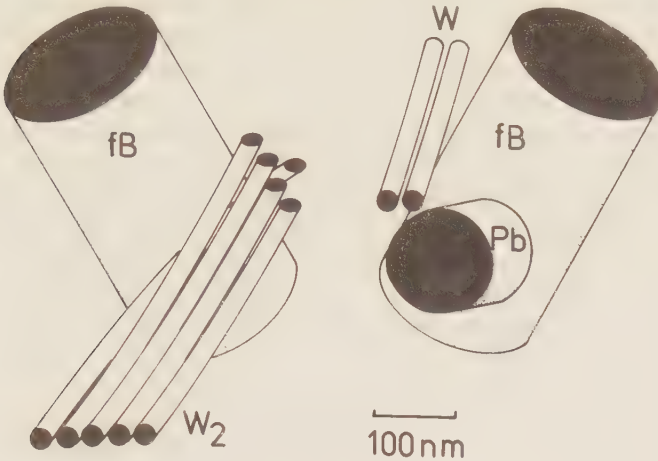


Abb.9: Rekonstruktion des Basalkörperkomplexes einer Prophasezelle.

An einem der V-förmig zueinander stehenden Basalkörper sitzen sowohl ein höchstens 300nm langes Mikrotubulipaar (W) als auch ein Probasalkörper (Pb). Am zweiten Basalkörper beginnt die große Wurfelfaser (W_2). Diese Rekonstruktion basiert auf den Serienaufnahmen der Fig.39, künftiger flagellentragender Basalkörper (fB).

Die in einer Ebene liegenden Längsachsen der beiden Basalkörper (Fig.41) stehen in einem Winkel von 50-70° zueinander (Abb.9). Zu diesem Zeitpunkt findet man die Basalkörper bereits von den mutmaßlichen Vorläufern der distalen "striated connexion" verbunden; es ist jedoch noch keine deutliche Querstreifung zu erkennen. Aus der Analyse einer Querschnittserie (Fig.37a-c) durch einen der beiden Basalkörper geht hervor, daß über eine Länge von ca. 300nm Tripletts vorhanden sind, die sich danach über die Länge der restlichen 160nm zunächst als Dupletts und schließlich als Einzelmikrotubuli fortsetzen. Proximal enthält dieser Basalkörper die Wagenradstruktur, die während der Interphase nur für die zusätzlichen Basalkörper typisch war. Da außer dieser Serie kein aus Prophasezellen stammender Basalkörper mehr exakt quergeschnitten vorlag, bleibt die Frage offen, ob dem zweiten Basalkörper die Wagenradstruktur fehlt. Auf der Höhe des Übergangs der Tripletts in die Dupletts sind die sogenannten "Übergangsfasern" zu erkennen. Etwa 150nm oberhalb davon treten die ersten Anzeichen für die sternförmige Struktur auf (Lang 1963)

auf (Fig.37c), die typisch für die Übergangsregion zwischen Basalkörpern und Flagellen sind (vgl. Wolf 1979). Die Plasmamembran ist über dem mikrotubulihaltigen Teil der entstehenden Geißel noch ca. 160nm aufgewölbt. Über dem proximalen Ende des einen Basalkörpers entspringt die große Wurzelfaser, deren Verlauf am Modell der ganzen Zelle (Fig.27) und der in Abb.9 wiedergegebenen Rekonstruktion verdeutlicht wird. Die Wurzelfasern der beiden Basalkörperkomplexe streben zunächst entlang der Zellperipherie aufeinander zu, ändern jedoch unmittelbar bevor sie sich treffen würden, weiche und zueinander umgekehrt spiegelsymmetrische Bögen (ca. 120°) beschreibend, ihre Richtung. Im Bereich der Äquatorialebene der Zelle bzw. des Kerns verlaufen sie parallel zueinander und nahezu senkrecht zur Äquatorialebene; hier kleiden sie eine V-förmige Invagination der Plasmamembran aus (Fig.39). Diese Invagination setzt sich, indem sie sich mehr oder weniger verbreitert und vertieft, entlang der auseinanderstrebenden Wurzelfaserbögen fort.

Während der Prophase waren auch die ersten Anzeichen der Neubildung von Basalkörpern in Form der sogenannten Probasalkörper zu beobachten. In insgesamt 8 Schnittserien durch Basalkörperkomplexe konnten nur 4 Probasalkörper nachgewiesen werden; zwei in einer frühen und zwei in einer späten Prophase. In allen Fällen wurde jeweils nur ein Probasalkörper in der Nachbarschaft des nicht mit der großen Wurzelfaser in Verbindung stehenden Basalkörpers vorgefunden; ihr Entwicklungszustand war identisch (Fig.38). Die Probasalkörper stehen im rechten Winkel zum basalen Teil des benachbarten Basalkörpers und bestehen aus einer mehr oder weniger deutlich erkennbaren Wagenradstruktur, um die sich dichtes Material in Form einer Manschette gruppiert hat (Fig.38d,h). Stellenweise können innerhalb bzw. am Rande dieser Manschette Tubuliprofile identifiziert werden. Da diese Struktur schon in einem Schnitt erfaßt wird, übersteigt ihre Länge auf keinen Fall 85nm. Der Probasalkörper liegt auf der selben Seite der durch die Längsachsen der Basalkörper verlaufenden Ebene, wie die Ansatzstelle der großen Wurzelfaser (Abb.9). Infolge der ungünstig liegenden Schnittebenen können weder exakte Angaben zu der Entfernung zwischen dem Probasalkörper und seinem Basalkörpernachbarn gemacht werden, noch kann etwas darüber ausgesagt werden, ob der Basalkörpernachbar selbst eine Wagenradstruktur besitzt. Über dem proximalen Ende des nicht mit der großen Wurzelfaser assoziierten Basalkörpers ist ein Mikrotubulipaar sichtbar, das den Basalkörperkomplex in entgegengesetzter Richtung zur voll ausgebildeten Wurzelfaser verläßt und nach 200-300nm endet.

In der frühen Prophase ist der ganze Basalkörperkomplex in dichtes Material unterschiedlicher Dichte eingebettet, das nach unten von der

Kernhülle begrenzt wird. Dort liegt das Material etwa in Form einer runden Scheibe (Dicke: 70nm; Durchmesser: 500nm) am dichtesten vor (Fig.40). Unterhalb dieser Scheibe ist die Kernhülle modifiziert, d.h.

a) Der Abstand zwischen beiden Membranen hat sich von 30nm (Normalfall) auf 50nm vergrößert.

b) Kernporen fehlen

c) Der Intermembranraum erscheint aufgeheilt.

Die Ausgestaltung der Kernhülle im Bereich der Kernpole ist in frühen Prophasezellen auch in Bezug auf andere strukturelle und räumliche Kriterien sehr heterogen. Folgende Einteilung wurde vorgenommen:

1. Die Kernhülle ist intakt und nicht eingebuchtet (Fig.40)

2. Die Kernhülle ist intakt; neben dem modifizierten Stück Kernhülle liegt eine bis zu 700nm tiefe Invagination der "normalen" Kernhülle (Fig.42).

3. Die gänzlich unmodifizierte Kernhülle besitzt eine Öffnung unterhalb der Basalkörper.

4. Ähnlich wie 3; jedoch können Fortsätze der Kernhülle ca. 600nm tief in den Kern hineinragen (Fig.43).

Die beiden polaren Membranareale eines Kerns können sich voneinander unterscheiden. Die Kombination der in Punkt 1 und 2 bzw. 3 und 4 beschriebenen Charakteristika wurde vorgefunden.



Abb.10: Rekonstruktion der cytoplasmatischen Mikrotubuli einer frühen Prophasezelle. Pfeile markieren die Lage der Basalkörper. Kern (K).

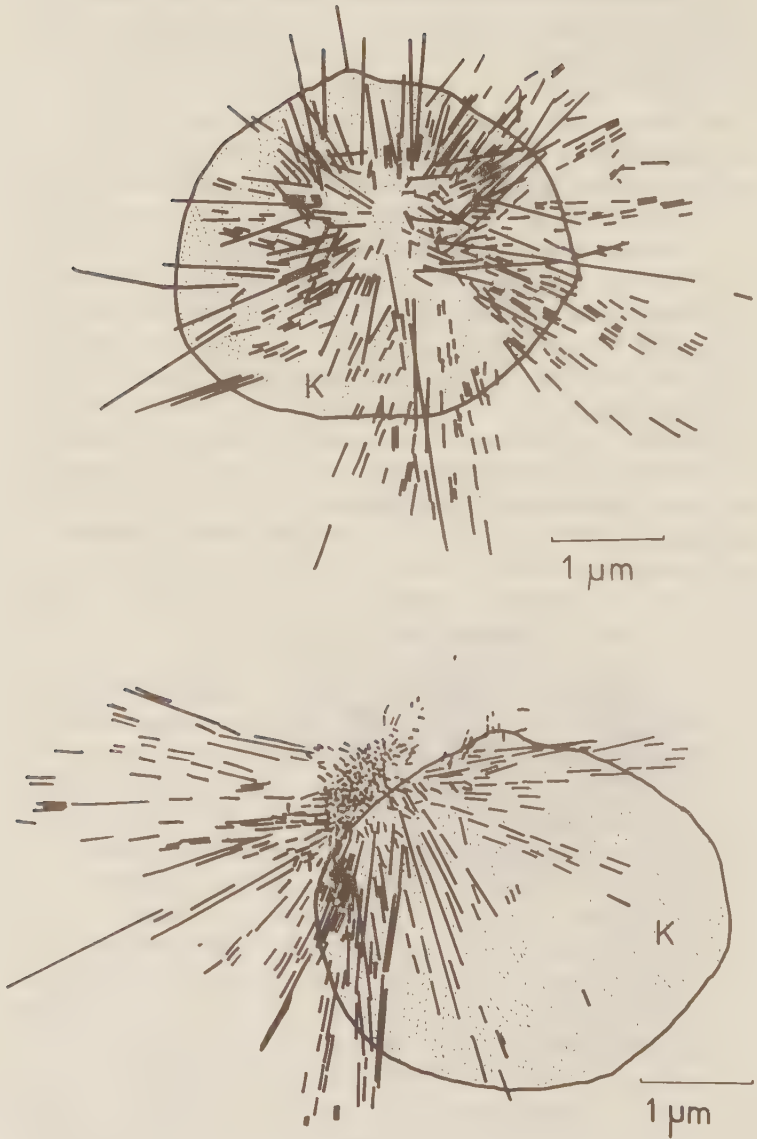


Abb.11: Rekonstruktion der cytoplasmatischen Mikrotubuli an beiden Kernpolen einer frühen Prophasezelle. Kern (K).



Abb.12: Rekonstruktion der cytoplasmatischen Mikrotubuli an beiden Kernpolen einer frühen Prophasezelle. Kern (K)

Während der frühen Prophase inserieren an dem amorphen Material um die Basalkörperkomplexe sternförmig in das Cytoplasma austrahlende Mikrotubuli. Wie die Rekonstruktionen dieses Mikrotubuliinventars von 3 verschiedenen Zellen zeigen, bestehen Unterschiede in der Menge. Abb.10 zeigt die Zelle mit der geringsten Mikrotubulimenge. Die anderen Zellen enthalten deutlich mehr cytoplasmatische Mikrotubuli; aus diesem Grund war es der besseren Übersichtlichkeit halber vorteilhafter, das jeweils zu einem der beiden Kernpole gehörende Mikrotubulinventar getrennt darzustellen (Abb.11a,b; 12a,b). Die unterschiedlichen Mikrotubulimengen standen weder in Beziehung zur Zellgröße noch zu dem mehr oder weniger fortgeschrittenen Entwicklungsstand innerhalb der frühen Prophase. Vereinzelt reichen cytoplasmatische Mikrotubuli bis zur Zellmembran; sie dringen gelegentlich sowohl in das Lumen der Basalkörper (Fig.41), als auch in die polaren Invaginationen der Kernhülle ein (Fig.42).

In der späten Prophase hat die Zahl der von den Basalkörperkomplexen in das Cytoplasma gerichteten Mikrotubuli drastisch abgenommen. Nur noch vereinzelt (2-3 pro Basalkörperkomplex) treten sie in Erscheinung.

5.1.2. Meta- und Anaphase

Gegenüber der Prophase sind die Basalkörperkomplexe insofern verändert, als sie mit 2 Probasalkörpern ausgestattet sind. Die zweiten Probasalkörper entstehen gegenüber der Ansatzstelle der großen Wurfaser senkrecht zur Basis des mit dieser Wurfaser assoziierten Basalkörpers (Abb.13). Auf der vom Probasalkörper 1 abgewandten Seite des anderen Basalkörpers liegen Mikrotubuli, die nach 200-300nm wieder enden. Es handelt sich dabei offensichtlich um ein Mikrotubulipaar; in einem anderen Fall sind zumindest zu Beginn 4 Mikrotubuliprofile zu erkennen (Fig.45e). Der Aufbau der Basalkörperkomplexe war in den untersuchten Ana- und Metaphasezellen identisch.

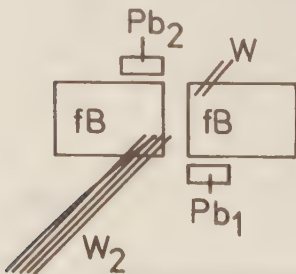


Abb.13: Schematische Darstellung des Basalkörperkomplexes der Meta- und Anaphasezellen. Große Wurfaser (W_2), künftiger flagellentragender Basalkörper (fB), Probasalkörper (Pb_1 und Pb_2), frühes Entwicklungsstadium einer Wurfaser (W).

Während sich späte Prophase- und Metaphasestadien in der spärlichen Existenz von mit den Basalkörpern assoziierten Mikrotubuli gleichen, ist diesbezüglich während der Anaphase wieder ein Anstieg in der Mikrotubulizahl zu verzeichnen. Neben dieser verhältnismäßig unauffälligen Veränderung tritt nun erneut ein ausgedehntes mit den Wurzelfasern assoziiertes Mikrotubulisystem in Erscheinung (Abb.14). Der größte Teil dieser Mikrotubuli ist so orientiert, daß zwischen ihnen und der Wurzelfaser ein spitzer Winkel gebildet wird. Im Bereich um das mittlere Kern= drittel herum finden sich auch weiter basalwärts führende Mikrotubuli, die offensichtlich vorwiegend dort ansetzen, wo die beiden Wurzelfasern, ähnlich wie am Prophasekern demonstriert (vgl. Fig.27), ein Stück weit parallel verlaufen.



Abb.14: Rekonstruktion der cytoplasmatischen Mikrotubuli einer späten Anaphasezelle. Kern (K), Cytokinesespalt (C).

5.2. Intranukleäre Verhältnisse

5.2.1. Frühe Prophase

Ein weiteres Charakteristikum der Prophase, das in 5.1.1. noch nicht erwähnt wurde, ist das Auftreten intranukleärer Mikrotubulisysteme (Spindelmikrotubuli). Um deren Entstehungsweise zu analysieren, wurde den Stellen, an denen sie in der frühen Prophase ansetzen, besondere Aufmerksamkeit geschenkt.

In einem Kern, dessen Hülle allem Anschein nach vollständig intakt war, gingen die intranukleären Mikrotubuli von einer wechselnden Anzahl von Ansammlungen dichten Materials aus (=polare Körper), die unmittelbar unter der Kernhülle im Kernpol lagen (Fig.44). Sie ließen sich nicht von zerfallenden Komponenten des Nukleolus bzw. kondensierendem Chromatin

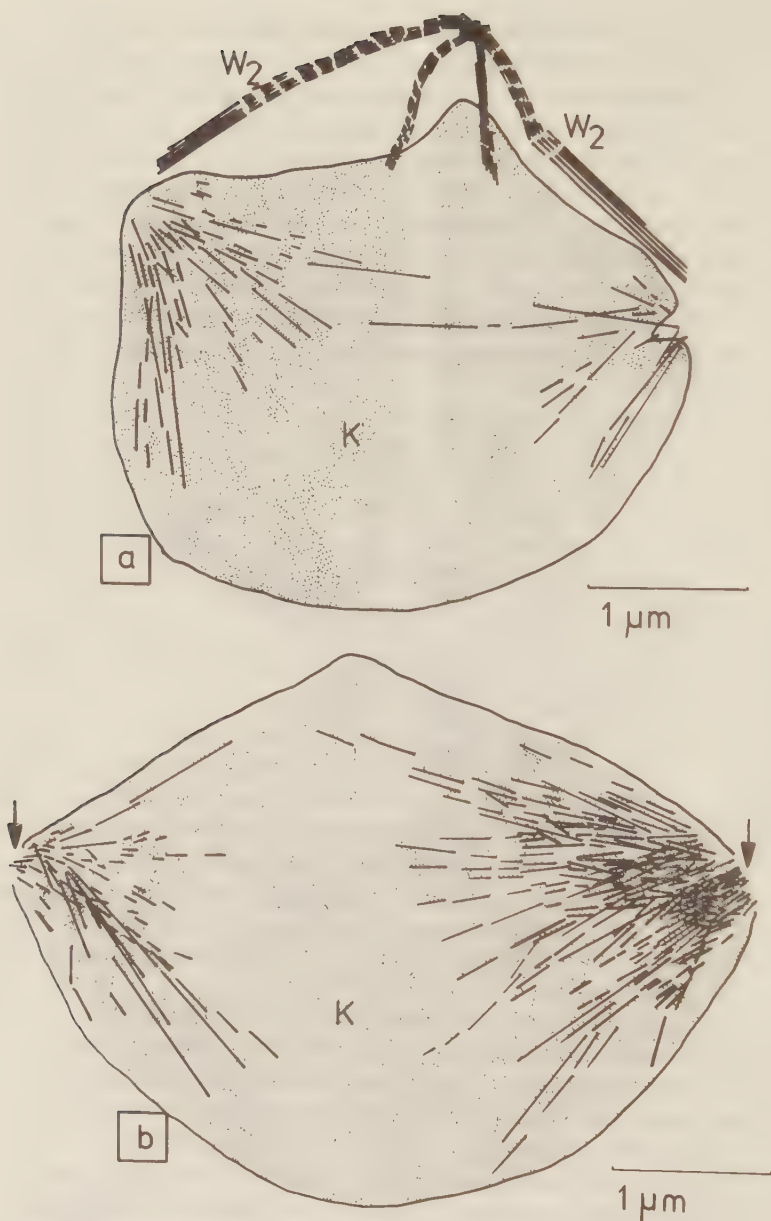


Abb.15a,b: Rekonstruktion der Wurzelfasern und intranukleären Mikro= tubuli (a) und nur der intranukleären Mikrotubuli (b) in je einer frühen Prophasezelle. Kern (K). Große Wurzelfaser (W_2). Pfeil: polare Öffnung.

unterscheiden. In einem zweiten Kern, dessen Hülle zwei polare Öffnungen besaß, inserierte ein Teil der intranukleären Mikrotubuli an dem amorphen Material, in das der etwas oberhalb vom Kern liegende Basalkörperkomplex eingebettet ist; die Mikrotubuli traten durch die polare Öffnung in den Kern ein. Der andere Teil inserierte nach wie vor an seitlich von der polaren Öffnung sitzenden membrangebundenen polaren Körpern.

Die Rekonstruktionen des intranukleären Mikrotubuliinventars dieser beiden sich in der frühen Prophase befindenden Kerne zeigen (Abb.15a,b), daß die Mikrotubuli von den Kernpolen ausgehend kegelförmig zur Äquatorialebene des Kerns hin ausstrahlen. Der Mikrotubuligehalt ist in dem Kern mit der polaren Öffnung (Abb.15b) höher. In beiden Kernen fällt auf, daß sowohl die Anzahl als auch die Ausdehnung der Mikrotubuli an beiden Polen unterschiedlich sind.

5.2.2. Die Morphologie von späten Prophase-, Metaphase- und Anaphasekernen

Beim Übergang von der Prophase zur Metaphase nimmt der im großen und ganzen sphärische Kern (Fig.26) unter Volumenkonstanz (Gaffal et al. 1983) eine Form an, die am ehesten der zweier an ihren Basen fusionierter Kegel mit abgerundeten Spitzen gleicht (Fig.33;47). Auf dem Weg zu diesem Zustand werden als späte Prophase (Fig.32) und Pro-metaphase (Fig.46) bezeichnete Übergangsstadien durchlaufen. In der späten Prophase finden sich mit Ausnahme der Polbereiche (ca. 1,5µm einwärts) im ganzen Kern diffuse, inselartige oder membranständige Ansammlungen osmiophiler Substanz. Polare Körper, wie sie in der frühen Prophase anzutreffen waren, sind nicht mehr aufzufinden. Da in der kontrastierten Substanz in diesem wie auch in den nachfolgenden Stadien weder Nukleolus- noch Chromatinabkömmlinge unterschieden werden können, wurde dafür der neutrale Ausdruck "dichtes Kernmaterial" gewählt.

Die beiden durch die Äquatorialebene gegebenen Hälften des späten Prophasekerns unterscheiden sich in der Struktur des darin enthaltenen "dichten Kernmaterials" und in der räumlichen Verteilung der Mikrotubuli. In der einen Hälfte liegt das "dichte Kernmaterial" mehr in kompakter Form vor (Fig.50), und die Verteilung der Mikrotubuli ist inhomogen. Stellenweise fehlen Mikrotubuli, so z.B. in einem segmentartigen Areal des Kernquerschnittes der Fig.50. Kompaktes Kernmaterial wird in der Regel von weniger Mikrotubuli durchzogen als die transparenteren Bereiche. In der anderen Kernhälfte sind Mikrotubuli gleichmäßiger und "dichtes Kernmaterial" diffuser verteilt (Fig.51). Für beide Hälften gilt, daß sich membranständige Mikrotubuli (Mikrotubuli-Membran-Abstand

kleiner als 25nm) polwärts häufiger finden als zentral.

Der Prometaphasekern ist durch das Auftreten von Kinetochoren, deren Struktur noch eingehend behandelt wird (5.2.7.), und durch die in Entstellung begriffene Äquatorialplatte (Fig.46) charakterisiert. Um die Äquatorialplatte herum befindet sich stellenweise noch kompaktes Kernmaterial, der übrige Teil ist mit diffus verteiltem Material gefüllt.

In der Metaphase ist die Äquatorialplatte voll ausdifferenziert. Obgleich die Kinetochore deutlich sichtbar sind, lassen sich einzelne Chromosomen nicht auflösen. Die aus sowohl kontrastreichem wie auch kompaktem Material bestehende Äquatorialplatte ist perforiert. Diese Passagen enthalten ähnliches Material wie die an die Äquatorialplatte angrenzenden Kernbereiche (Fig.47). Den Kernraum beiderseits der Äquatorialplatte kann man in zwei Regionen einteilen. Eine zentrale Region in Form von zwei abgerundeten Kegeln, deren Grundflächendurchmesser etwa $\frac{2}{3}$ des Äquatorialplattendurchmessers und deren Höhe etwa $\frac{2}{3}$ der Äquatorialplatten-Pol-Distanz einnehmen. Die zentrale Region erscheint stärker granuliert als die periphere Region. Auf Höhe der Äquatorialplatte findet man die Mikrotubuliprofile paarweise oder in kleinen Gruppen vorwiegend innerhalb der Passagen. Nur wenige membranständige Mikrotubuli treten auf (Fig.52). Seitlich von der Äquatorialplatte sind Mikrotubuli fast nur am Rande der zentralen kegelförmigen Regionen und in der Peripherie anzutreffen (Fig.53). Polwärts nimmt die Zahl der membranständigen Mikrotubuli zu. Mikrotubuliprofile mit einem zentralen Filament (Fig.53 Inset) wurden nur sehr selten beobachtet (max. 10 pro Kern), ohne daß dabei eine Kernregion bevorzugt wurde.

Im frühen Anaphasekern, der in der Form noch weitgehend dem Metaphasekern gleicht, ist die Äquatorialplatte verschwunden. Statt dessen enthält ein hantelförmiger Körper "dichtes Kernmaterial" (Fig.48). Die Hantelenden sind als sich bildende Anaphaseplatten zu betrachten. Da der Raum zwischen den Anaphaseplatten als Interzonalspindel definiert ist (Roberts & Hyams 1979), befindet sich das Mittelstück der Hantel noch innerhalb davon. In einer Querschnittserie durch einen entsprechend weit entwickelten Anaphasekern wurden nur wenige Mikrotubuli innerhalb des Mittelstücks der Hantel vorgefunden (Fig.54). In der gleichen Serie war eine besondere Interaktion zweier aufeinander zu verlaufender Mikrotubuli zu beobachten. Etwa 700nm vor seinem Ende verliert einer der Tubuli ein Stück Wand (ca.30nm). Gleichzeitig nimmt eine Seite der resultierenden Rinne mit dem Nachbartubulus Kontakt auf. Im Querschnitt wird diese Interaktion als Ringprofil mit C-förmigem Anhang sichtbar (Fig.55).

In der späten Anaphase nimmt der Kern etwa die Gestalt einer Zigarre an, die an den Enden etwas aufgebläht ist (Fig.49). Diese Erweiterungen

werden von den Anaphaseplatten ausgefüllt, in denen das "dichte Kernmaterial" von einem Labyrinth transparenter Zonen durchsetzt ist (Fig.56). Wie unsere gemeinsamen Untersuchungen gezeigt haben (Gaffal, Wolf & Schneider 1983), ist das Volumen der Anaphaseplatten ("dichtes Kernmaterial") ca. 4 mal so groß wie das der Metaphaseplatten. Polwärts werden die Anaphaseplatten von der Front der Kinetochore begrenzt. Hinter dieser Grenze treten ebenfalls Ansammlungen dichten Materials in Erscheinung (Fig.58). Die Mikrotubuli der Interzonalspindel dieses Kerns sind ungleichmäßig verteilt; gleichzeitig ist eine Tendenz zur Gruppenbildung (2-5 Mikrotubuli) erkennbar (Fig.57). Membranständige Mikrotubuli sind hier wie auch auf Höhe der Anaphaseplatten seltener vertreten. Dort ziehen die Mikrotubuli vorzugsweise durch die transparenteren Areale. Im Bereich zwischen Anaphaseplatten und Pol sind die Mikrotubuli gleichmäßiger verteilt. Die meisten davon verlaufen aber schräg zur Längsachse. Hier findet man mehr membranständige Mikrotubuli.

5.2.3. Verteilung der Mikrotubulimasse und Mikrotubulidichte in späten Prophase- bis Anaphasekernen

In diesem Teil der Untersuchung wurden aus Querschnittserien durch einen späten Prophase-, einen Prometaphasekern, zwei Metaphasekerne, einen frühen und einen späten Anaphasekern die Anzahl der Mikrotubuliprofile pro Einzelschnitt bestimmt und über der Kernlängsachse im Abstand der mittleren Schnittdicke aufgetragen. Da die überwiegende Mehrzahl der Mikrotubuli quergeschnitten und sich über die ganze Schnittdicke erstreckend vorlag, ist die Anzahl der Mikrotubuliprofile ein ziemlich genaues Maß für die Mikrotubulimasse. Dementsprechend liefert diese stufenweise vollzogene Analyse der numerischen Verteilung der Mikrotubuliprofile Hinweise auf die Verteilung der Mikrotubulimasse. Der Einfachheit halber wird bei der Besprechung der Ergebnisse von der Verteilung der Mikrotubulimasse gesprochen.

Für 3 der Kerne (später Prophase-, Metaphase- und später Anaphasekern) wurde zusätzlich die sogenannte Mikrotubulidichte als Quotient aus der Anzahl der Mikrotubuliprofile pro Kernquerschnitt und der Fläche des Kernquerschnitts ermittelt.

Bezüglich der Verteilung der Mikrotubulimasse ist in der späten Prophase zu beobachten (Abb.16) daß:

1. die Mikrotubulizahl an beiden Polen unterschiedlich steil zunimmt,
2. in der einen Kernhälfte ein Plateau erreicht wird, während in der anderen ein Maximum auftritt.

In diesem Kern ist die Mikrotubulimasse extrem ungleich auf die beiden Kernhälften verteilt. Die linke Hälfte der Kurve nimmt ca. 37%, die rechte Hälfte

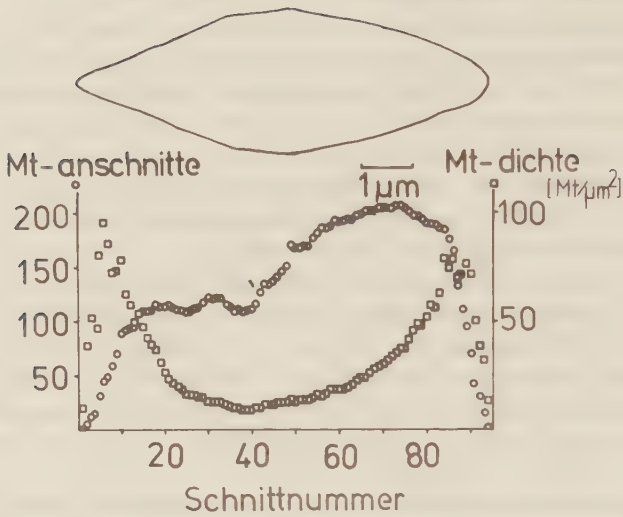


Abb.16: Verteilung der Mikrotubulimasse (O) und der Mikrotubulidichte (□) als Zahl der Mikrotubuliprofile pro Fläche des Kernanschnitts ($\text{Mt}/\mu\text{m}^2$) über der Kernlängsachse in einem späten Prophasekern. Die Längssilhouette des Kerns ist wie auch in den folgenden Darstellungen dieser Art der Graphik zugeordnet.

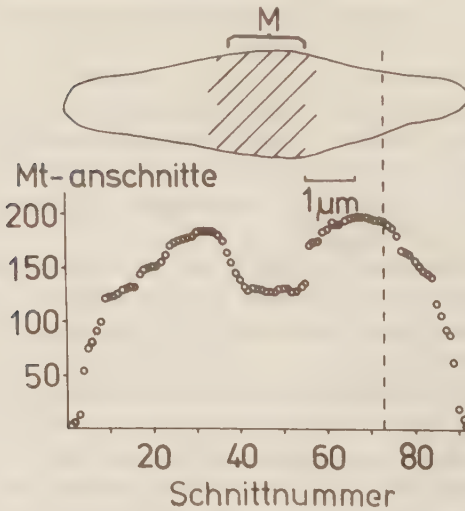


Abb.17: Verteilung der Mikrotubulimasse über der Kernlängsachse in einem Prometaphasekern. Der Kurvenverlauf rechts von der gestrichelten Linie wurde in Anlehnung an die Gegebenheiten im linken Kernteil extra=poliert. Metaphaseplatte (M).

ca. 63% der vom Kurvenverlauf eingeschlossenen Fläche ein, d.h. etwa 1/3 der Mikrotubulimasse ist in der linken Kernhälfte und 2/3 sind in der rechten Kernhälfte lokalisiert. Die Mikrotubulidichte zeigt jeweils ca. 1 μm vor den Polen einen scharfen Peak.

Von der Schnittserie durch den Prometaphasekern fehlen technisch bedingt ca. 20 Schnitte des einen Pols. Der fehlende Teil wurde aber in Analogie zu den Gegebenheiten in der anderen Kernhälfte extrapoliert (Abb.17). Trotz dieses Mangels ist festzustellen, daß in diesem Kern die Mikrotubulimasse etwa zu gleichen Teilen auf die beiden Hälften verteilt ist (links ca. 48%; rechts ca. 52%). Die Kurvenmaxima treten auf Höhe des Randes bzw. etwas seitlich vom Rand des im Zentrum akkumulierten "dichten Kernmaterials" auf. Innerhalb des Bereiches mit "dichtem Kernmaterial" ist deutlich weniger Mikrotubulimasse vorhanden.

Die zwei untersuchten Metaphasekerne unterscheiden sich etwas in der Verteilung der Mikrotubulimasse. Während der eine Kern (Abb.18) diesbezüglich eine Asymmetrie aufweist - die linke Kernhälfte enthält ca. 58%, die rechte Kernhälfte ca. 42% - ist die Mikrotubulimasse im anderen Kern (Abb.19) ziemlich symmetrisch verteilt (links: ca. 49%; rechts: ca. 51%). Als Kernmitte wurde in beiden Fällen die Mitte des Bereiches mit "dichtem Kernmaterial" festgelegt. Dort ist merklich (30-40%) weniger Mikrotubulimasse vorhanden als seitlich vom "dichten Kernmaterial", wo die beiden

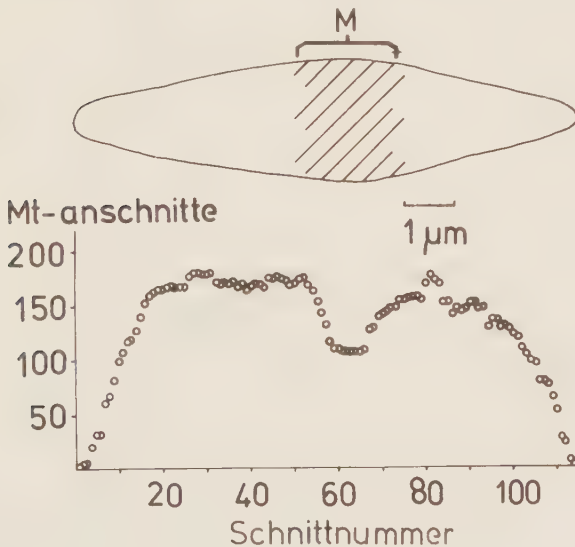


Abb.18: Verteilung der Mikrotubulimasse über der Kernlängsachse in einem Metaphasekern. Metaphaseplatte (M).

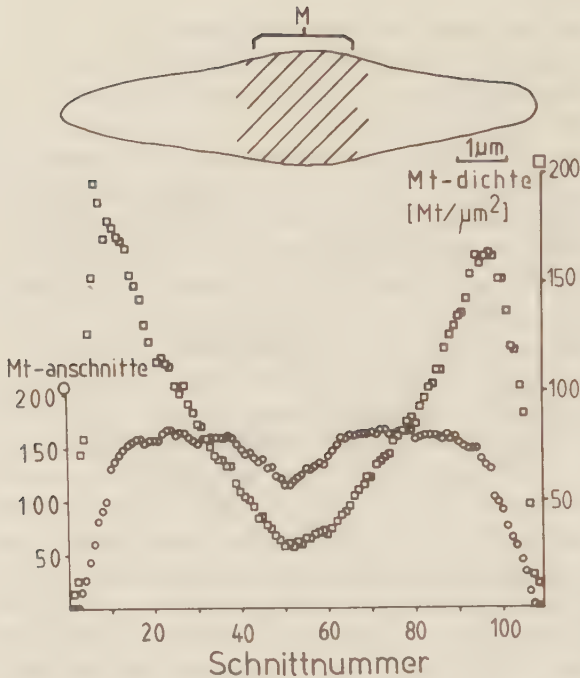


Abb.19: Verteilung der Mikrotubulimasse (○) und der Mikrotubulidichte (□) als Zahl der Mikrotubuliprofile pro Fläche des Kernanschnitts ($\text{Mt}/\mu\text{m}^2$) über der Kernlängsachse eines Metaphasekerns. Metaphaseplatte (M).

Kurven mehr oder weniger deutlich bis etwa $1,5\mu\text{m}$ vor den Kernpolen auf maximalem Niveau verbleiben. Die Mikrotubulidichte des Metaphasekerns mit der symmetrischen Verteilung der Mikrotubulimasse zeigt wie im späten Prophasekern ca. $1\mu\text{m}$ vor den Kernpolen Peaks.

Die Mikrotubulimasse in einem frühen Anaphasekern (Abb.20) ist ausgesprochen symmetrisch (links ca. 50%; rechts ca. 50%) verteilt. Die im Vergleich zu den Metaphasekernen deutlich weniger breiten Kurvenmaxima liegen auf Höhe der sich ausbildenden Anaphaseplatten. Entlang des Interzonalbereichs zeigt die Kurve ein breites, ebenes Tal auf etwa halbem Niveau der Maxima.

Die Verteilung der Mikrotubulimasse im späten Anaphasekern (Abb.21) zeigt dagegen einen asymmetrischen Verlauf. Je nachdem wo man die Kernmitte festlegt – entweder in der Mitte des Interzonalbereiches oder in der Mitte der Längsachse – enthält die linke Kernhälfte 36% bzw. 42% und die rechte Kernhälfte 64% bzw. 58%. Die Kurvenmaxima liegen auf Höhe der polwärts

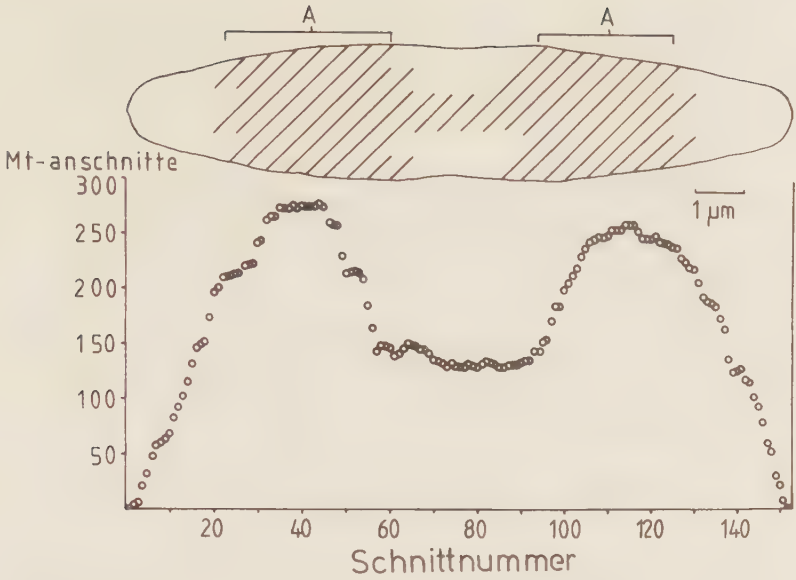


Abb.20: Verteilung der Mikrotubulimasse über der Kernlängsachse in einem frühen Anaphasekern. Anaphaseplatten (A).

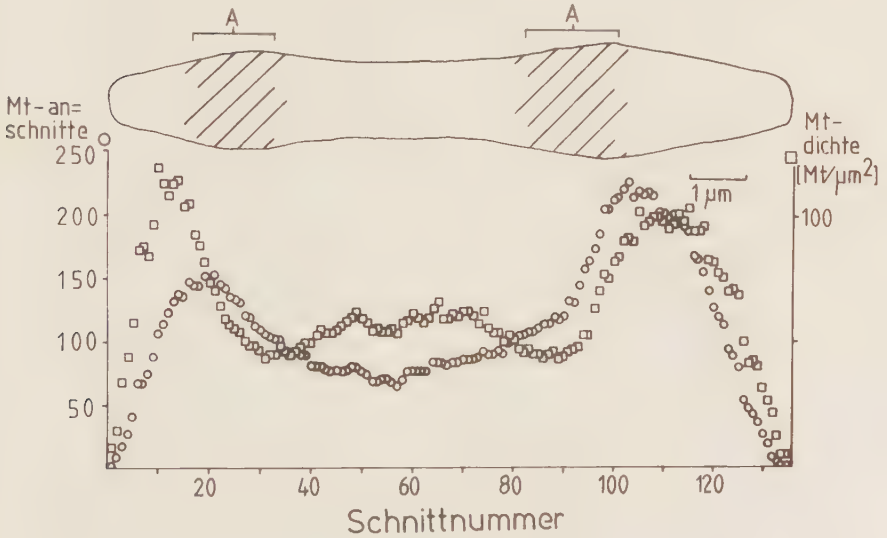


Abb.21: Verteilung der Mikrotubulimasse (○) und der Mikrotubulidichte (□) als Zahl der Mikrotubuliprofile pro Fläche des Kernanschnitts ($\text{Mt}/\mu\text{m}^2$) über der Kernlängsachse in einem späten Anaphasekern. Anaphaseplatten (A).

gerichteten Enden der Anaphaseplatten und sind im Vergleich zum frühen Anaphasekern spitzer. Das Kurvental hat sich parallel zur Verlängerung des Interzonalbereiches verbreitert. Asymmetrisch ist auch die Lage der Maxima der Mikrotubulidichte vor den Polen (links: ca. $1\mu\text{m}$; rechts: ca. $2,5\mu\text{m}$).

Die maximale Zahl von Mikrotubuliprofilen pro Kernquerschnitt schwankt von der späten Prophase bis zur späten Anaphase zwischen 160 und 280. Eliminiert man die aus dem deutlich größeren frühen Anaphasekern gewonnenen Daten (260-280) dann verbleibt eine Schwankungsbreite dieser Zahl von 160-230.

Beim Vergleich der aufsummierten Mikrotubulidichten zwischen einem Metaphasekern (Volumen: $17,3\mu\text{m}^3$, Gesamtmikrotubulilänge: $1290\mu\text{m}$) und einem etwa gleich großen Anaphasekern (Volumen: $19,4\mu\text{m}^3$, Gesamtmikrotubulilänge $1190\mu\text{m}$) liegt der Wert für den Anaphasekern 16% tiefer.

5.2.4. Demonstration des Auswertverfahrens für die Mikrotubulirekonstruktion aus Querschnittserien

Aus den Querschnittserien durch den späten Prophasekern, den Metaphasekern mit der symmetrischen Verteilung der Mikrotubulimasse und den späten Anaphasekern wurde die absolute Zahl der Mikrotubuli, deren jeweilige Länge und ihre topographische Lage in Bezug auf die Längsachse des Kerns rekonstruiert. Vor der Besprechung der Ergebnisse soll jedoch an einigen ausgewählten Einzelanalysen von Tubuli die Art und Weise der Protokollierung demonstriert werden. Dies geschieht in der Absicht, dem Leser zu zeigen, wie schwer es manchmal vor allem in "Konfliktsituationen" war, eine Entscheidung zu fällen. An solchen Schwierigkeiten lassen sich die Grenzen des Auflösungsvermögens bzw. die unvermeidliche Fehlerquote abschätzen.

Als Orientierungshilfe beim Verfolgen eines Tubulus dienen seine räumliche Beziehung zu Nachbartubuli (Lage innerhalb eines Musters) und zur Kernmembran. Dazu kommt bei schräg geschnittenen Tubuli deren Richtung. Ein Tubulus beginnt oder endet, wenn auf dem Nachbarschnitt an der entsprechenden Stelle kein Mikrotubulianschnitt mehr nachweisbar ist.

In den vier aufeinanderfolgenden Schnitten (a-d) der Fig. 59 beginnen bzw. enden drei bezifferte Mikrotubuli. Tubulus 1, der zwar in a wegen seiner schrägen Lage nur undeutlich zu erkennen ist, endet in c. Gleichzeitig beginnt der Tubulus 2 in einer Entfernung von ca. 40nm zum Tubulus 1. Bei einem solchen Sachverhalt ist die Entscheidung leicht; Schwierigkeiten wären jedoch aufgetreten, wenn Tubulus 2 weniger weit seitlich versetzt zu und ohne die wenigstens geringfügige Überlappung mit Tubulus 1 begonnen hätte. Die Diskontinuität wäre möglicherweise nicht erkannt worden. Tubulus 3 endet eindeutig in c.

Die sechs Serienschritte der Fig.60 stammen aus einer polnahen Region des Metaphasekerns (Schnitte 15-10). Sie sind polwärts geordnet, d.h. a ist weiter vom Pol entfernt als f. Tubulus 1 beginnt in b und ist in e nicht mehr nachweisbar. Dementsprechend liegt ein sehr kurzer (ca. 250nm) Tubulus vor. Der schräg verlaufende Tubulus 2 nähert sich von a nach d immer mehr dem Tubulus 1 und nimmt in e bzw. f schließlich in Bezug auf die markierten Tubuli (Orientierungshilfen) fast die gleiche Stelle ein, die zwei Schnitte zuvor noch von Tubulus 1 besetzt war. Die Entscheidung, daß hier zwei getrennte Mikrotubuli vorliegen wäre erheblich schwerer gefallen, wäre Tubulus 1 einen Schnitt länger gewesen und hätte er eine ähnliche Richtung wie Tubulus 2 gehabt.

Als Beispiel dafür, daß in der überweigenden Mehrzahl der Fälle die Tubuli ohne Schwierigkeiten zu verfolgen waren sollen die 15 Serienschritte aus dem Interzonalbereich des späten Anaphasekerns dienen (Fig.61). Tubulus 1 ist unverwechselbar in 11 aufeinanderfolgenden Schnitten vorhanden, er erreicht damit eine Länge von ca. 900nm.

5.2.5.Numerische und topographische Rekonstruktion des Mikrotubuliinventars

Für die Kerne, deren Mikrotubuliinventar anschließend genauer behandelt wird, liegen bereits Angaben zur Mikrotubulidichte (5.2.3.) vor. Die hohe Mikrotubulidichte und die bezüglich des Schnittes schräge Lage vieler Mikrotubuli in Polnähe erschwerten ein zuverlässiges Verfolgen beträchtlich. Deshalb wurde auf die Auswertung der jeweils 10 endständigen Schnitte jedes Kerns verzichtet. Ein Teil der an dieser Grenze vorliegenden Mikrotubuli ist um einen unbestimmten Betrag verlängert; folglich sind dort die Mikrotubulilängen unter diesem Aspekt zu beurteilen.

Die Darstellung der Mikrotubuli (Abb.22a,b,c) erfolgt in Anlehnung an Tippit et al. (1981), der sogenannte freie Mikrotubuli gesondert behandelt. Als freie Mikrotubuli gelten relativ kurze Mikrotubuli ohne Beziehung zu einer polaren Struktur oder einem Kinetochor. Da für **Polytoma** eine Abgrenzung der freien Mikrotubuli von kurzen polaren Mikrotubuli in Folge des Fehlens einer definierten polaren Struktur unmöglich ist, kann keine entsprechende Einteilung vorgenommen werden.

In der Graphik wird ein Tubulus als membranbürtig geführt, wenn ein oder beide Enden in höchstens 25nm Entfernung von der inneren Membran der Kernhülle enden. Mikrotubuli, die über die Auswertegrenzen hinausgehen wurden auch als membranbürtig angesehen, wenn sie an der Grenze membranständig sind. Stichproben haben gezeigt, daß diese Mikrotubuli nicht wieder von der Membran wegführen. Die Anzahl der membranbürtigen Mikrotubulien ist in Tab.2 wiedergegeben. Sie bleibt über die unter-



Abb. 22a: Rekonstruktion des Mikrotubuliinventars eines späten Prophase-kerns über der Kernlängsachse (-Anzahl der Serienschritte). Jede Linie symbolisiert einen Tubulus. Wie auch bei den folgenden Darstellungen dieser Art gehen die Zahl, die Lage und die Länge der Mikrotubuli aus der Graphik hervor. Membranbürtige Mikrotubuli sind durch einen Punkt am Ende gekennzeichnet.



Abb.22b: Rekonstruktion des Mikrotubuliinventars eines Metaphasekerns.



Abb.22c: Rekonstruktion des Mikrotubuliinventars eines Kerns während der späten Anaphase.

suchten Stadien hinweg nahezu konstant, obwohl der Prophasekern eine geringere Gesamtmikrotubulilänge und Gesamtmikrotubulizahl aufweist und ungefähr 30% größer ist als die nachfolgenden Stadien. Der größere Teil der Mikrotubulidigungen befindet sich frei im Karyoplasma. Polwärts häufen sich membranbürtige Mikrotubuli.

Tab.2:

	Prophase	Metaphase	Anaphase
Gesamtmikrotubuli= länge (µm)	930	1290	1190
Gesamtmikrotubuli= zahl	399	447	485
Durchschnittliche Mikrotubulilänge (µm)	2,3	2,9	2,4
Kontinuierliche Mikrotubuli	6	3	0
Membranbürtige Mikrotubuli= enden	161	160	161

Die Gesamtmikrotubulizahl steigt von Pro- zu Anaphase an, und kontinuierliche d.h. von Pol zu Pol reichende Mikrotubuli verschwinden. Die durchschnittliche Mikrotubulilänge und die Gesamtmikrotubulilänge sind in der Metaphase am größten.

Teilt man den Spindelapparat in der geometrischen Äquatorialebene des Kerns (=senkrecht zur Längsachsenmitte) in zwei Halbspindeln, dann kann man - abgesehen von den kontinuierlichen - alle Mikrotubuli den jeweiligen Halbspindeln zuordnen. Ein Mikrotubulus wird dann zur einen oder anderen Halbspindel gehörend betrachtet, wenn er entweder ganz innerhalb der jeweiligen Kernhälfte liegt, oder weiter in die eine als in die andere Kernhälfte hineinragt. Die beiden Halbspindeln unterscheiden sich in ihrer Mikrotubulizahl (Prophase 146:247; Metaphase 210:234; Anaphase 221:264) In der Äquatorialebene existieren Überlappungen der Enden einiger entgegengesetzt polarisierter Mikrotubuli (=Mikrotubuli aus verschiede-

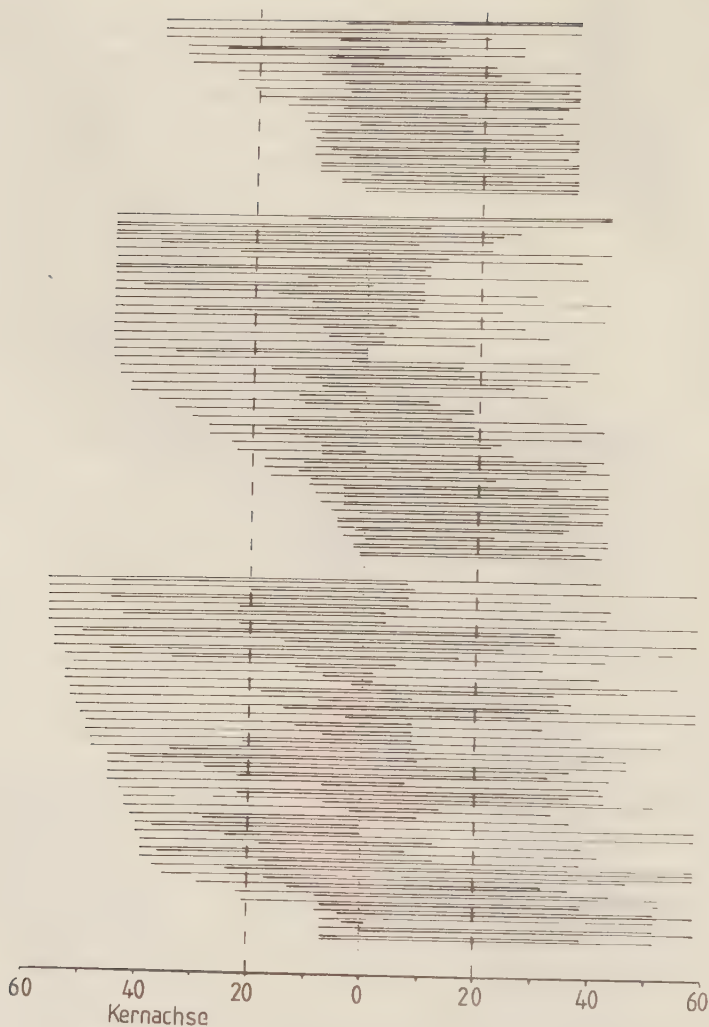


Abb.23: Länge und Lage (bezogen auf die Kernachse) der Mikrotubulipaare, deren Schnittprofile in der geometrischen Mitte (=gepunktete Linie) des Prophase- (oben), Metaphase- (mitten) und Anaphasekerns (unten) keinen größeren Abstand als 50nm voneinander hatten. Die von der geometrischen Kernmitte (=0) jeweils 20 Schnitte entfernt liegenden gestrichelten Linien stellen Bewertungsgrenzen für "überlappende" Mikrotubulipaare dar. Definitionsgemäß wurden Überlappungen nur gewertet, wenn die entgegengesetzt polarisierten und am weitesten voneinander entfernten Enden der beiden Partner auf oder außerhalb der Bewertungsgrenze lagen.

nen Halbspindeln). Bei der Analyse fiel auf, daß die überlappenden Enden paarweise oder in Gruppen von bis zu 5 Mikrotubuli eng beieinander liegen können. In der Schnittserie der Fig.62 ist eine ca. 500 nm lange Überlappungszone eines solchen Tubulipaares belegt. Allein das Ende des Tubulus 2 nimmt mit dem Tubulus 1 über eine ca. 10nm lange Brücke Verbindung auf, die in dieser Deutlichkeit aber nur gelegentlich zwischen anderen Paaren sichtbar wird.

Um die Häufigkeit von Überlappungen entgegengesetzt polarisierter Mikrotubuli zu bestimmen, wurde zuerst festgestellt, welche Mikrotubuliprofile auf dem in der Mitte der jeweiligen Schnittserie liegenden Querschnitt (-geometrische Äquatorialebene) einen Abstand von nicht mehr als 50nm voneinander haben. Solche Mikrotubuliprofile bildeten immer ein Paar. Dort wo mehrere Mikrotubuliprofile eng beieinander lagen (Gruppen) konnte ein Mikrotubuliprofil zu mehreren anderen Mikrotubuliprofilen diesen Abstand haben. Danach wurden die Längen der Mikrotubulipartner und ihre Lage in Bezug auf die Kernlängsachse aus den Abb.22a-c übernommen und paarweise registriert (Abb.23). Daraus geht hervor, daß nicht jedes Paar aus entgegengesetzt polarisierten Partnern besteht. Zwei gleich polarisierte Partner werden jedoch auch als überlappend gewertet, wenn sie mindestens 20 Schnitte in die entgegengesetzten Halbspindeln hineinreichen.

8 von 21 Paaren im späten Prophasekern, 23 von 41 Paaren im Metaphasekern und 39 von 43 Paaren im späten Anaphasekern erfüllen diese Voraussetzungen.

5.2.6.Mikrotubuli-Mikrotubuli-Abstände

Wiederholt wurde darauf hingewiesen (vgl.5.2.2.), daß die Mikrotubuli sehr verschiedene Abstände zueinander haben können. Da diese Abstände offensichtlich sowohl innerhalb verschiedener Kernzonen als auch in den Kernen unterschiedlicher Entwicklungszustände variieren, schien sich der Versuch zu lohnen, diese Verhältnisse zu quantifizieren. Dazu wurden die Abstände zwischen den Mikrotubuliprofilen in jedem 3. (polwärts) bzw. 5. (zentral) Serienschnitt vermessen und nach Klassen mit den Bandbreiten 30-50nm, 50-70nm und 70-100nm sortiert. Der prozentuale Anteil jeder Klasse an der Gesamtzahl der Messungen wurde über der Kernachse aufgetragen. Vergleicht man die so von den 3 Mitosekernen erhaltenen Kurven miteinander (Abb.24), dann läßt sich feststellen:

1. An den Polen zeigen alle 3 Kerne etwa die gleiche Verteilung der kurzen Abstände. Dagegen treten im mittleren Kerndrittel während des Übergangs von der Prophase in die Anaphase kurze Abstände immer häufiger auf.

Anteil der Mt-Mt-Abstände von 30-50nm

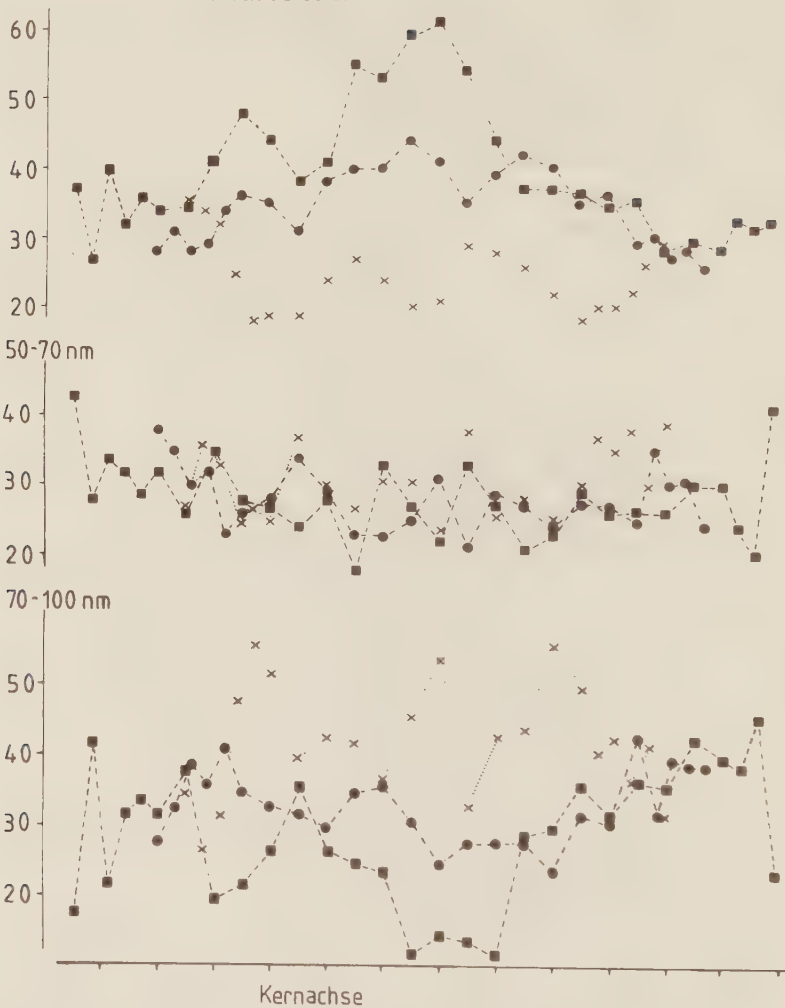


Abb.24: Prozentuale Verteilung definierter intermikrotubulärer Abstände (y-Achse) entlang der Kernachse (x-Achse) eines Pro- (X), Meta- (●) und Anaphasekerns (■). Die Abstände sind in 3 Klassen mit den Bandbreiten 30 50, 50 70 und 70 100nm eingeteilt. Die Länge der quergeschnittenen Kerne ist durch die Anzahl der Serienschritte gegeben. Eine Einheit der x Achse entspricht 10 Schnitten. Die Kernachsen wurden so verschoben, daß die Mitten der 3 Kerne übereinanderliegen.

2. Bezüglich der mittleren Abstände sind weder in den 3 Mitosekernen noch entlang ihrer Kernlängsachsen signifikante Unterschiede erkennbar.

3. Für die Verteilung der weiten Abstände zwischen den Mikrotubuli im mittleren Kerndrittel gilt das Gegenteil dessen, was für die kurzen Abstände festgestellt worden war. Die Häufigkeit weiter Abstände nimmt im Verlauf des Übergangs von der Prophase in die Anaphase ab. Die Ursache für diese Abnahme ist in der Gruppenbildung der Mikrotubuli zu sehen (vgl. 5.2.2.).

Die Gegenüberstellung der prozentualen Verteilung der kurzen Mikrotubuliabstände in zwei ungleich großen Metaphasekernen ($17,3\mu\text{m}^3$ und $32,2\mu\text{m}^3$, Abb. 25) zeigt im Bereich der Pole und im Bereich der Metaphaseplatte deutliche Unterschiede im Kurvenverlauf. Es bleibt unklar, ob diese Unterschiede auf die abweichende Kerngröße oder auf die möglicherweise unterschiedlich weit fortgeschrittene Metaphase zurückzuführen sind.

Anteil der Mt-Mt-
abstände von 30-50 nm in %

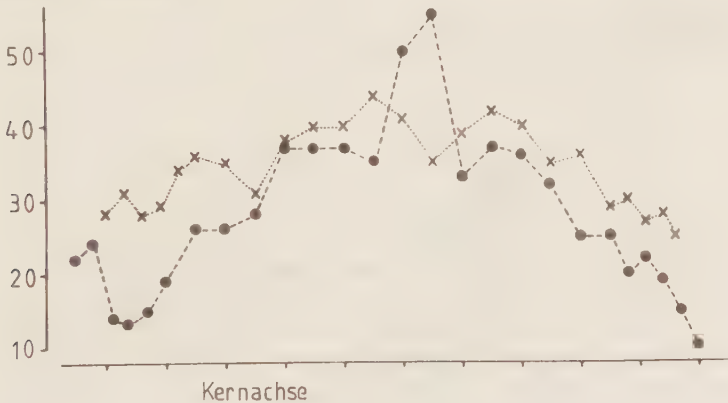


Abb. 25: Vergleich der prozentualen Verteilung der kurzen intermikrotubulären Abstände (Bandbreite: 30-50nm) entlang der Kernachse (x-Achse) zwischen zwei ungleich großen ($\times = 17,3\mu\text{m}^3$; $\bullet = 32,2\mu\text{m}^3$) Metaphasekernen. Die durch die Anzahl der Serienschritte gegebene Längsachse des kürzeren Kernes wurde so verschoben, daß die Mitten der beiden Kerne übereinander liegen. Die x-Achse ist in Schritte zu 10 Schnitten eingeteilt.

Trägt man den prozentualen Anteil kurzer Mikrotubuli-Mikrotubuli-abstände gegen die im gleichen Schnitt beobachteten Werte der Mikrotubulidichte (vgl. 5.2.3.) auf, dann erhält man für die 3 Mitosekerne unterschiedliche Kurven (Abb. 26). Im Prophasekern sind nur an den Stellen hoher Mikrotubulidichte (130-160 Mikrotubuli/ μm^2) etwas mehr eng benachbarte Mikrotubuli festzustellen als an den Stellen geringerer Mikrotubulidichte. Im Metaphasekern bleibt diese Beziehung an den Stellen hoher Mikrotubulidichte etwa auf dem selben Niveau wie im Prophasekern. Dagegen steigt die Häufigkeit eng benachbarter Mikrotubuli mit der Abnahme der Mikrotubulidichte stetig an. Im Anaphasekern fehlen hohe Mikrotubulidichten (über 120 Mikrotubuli/ μm^2). Während an den Stellen mittlerer Mikrotubulidichte (70-110 Mikrotubuli/ μm^2) die gleichen Verhältnisse wie im Metaphasekern vorgefunden werden, steigt die Häufigkeit geringer Abstände an den Stellen mit einer Dichte von ca. 60 Mikrotubuli/ μm^2 sprunghaft an, um in Richtung niedriger Mikrotubulidichten ebenso steil wieder auf das Niveau der Metaphaseverhältnisse zurückzufallen.

Anteil der Mt-Mt-
abstände von 30-50nm in %

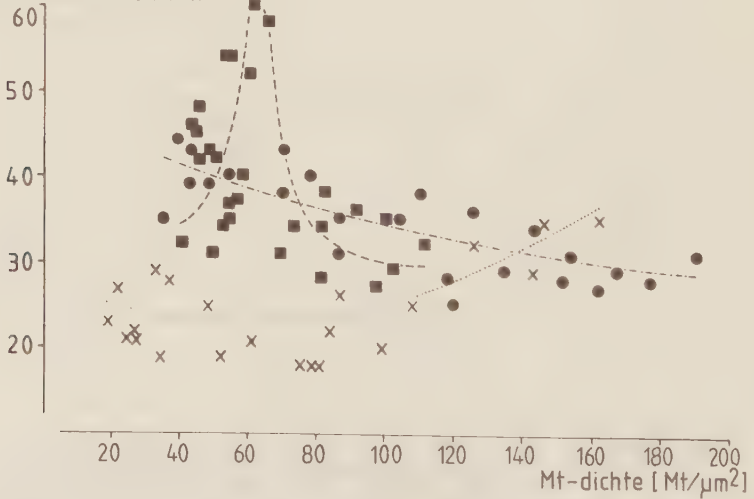


Abb. 26: Dynamische Veränderung der Korrelation zwischen der Mikrotubulidichte (x-Achse) und dem prozentualen Anteil intermikrotubulärer Abstände (Bandbreite: 30-50nm) im Kern während der Prophase- (x), Metaphase- (●) und Anaphaseentwicklung (■).

5.2.7. Mikrotubuligehalt, Kernvolumen, Kernlänge und Teilungskapazität der Zelle

Dieses Kapitel beschäftigt sich hauptsächlich mit der Frage, ob während der Mitose zwischen geometrischen Parametern der Zellen bzw. der Kerne (Volumen, Form), ihrem Mikrotubuligehalt und der Zahl der möglichen Teilungsschritte Beziehungen existieren. Daneben wird auch der Frage nachgegangen, in welcher Phase des Kernzyklus die Verlängerung des Kerns erfolgt.

Aus der Auflistung (Tab.3):

- a) der durch das Aneinandersetzen geometrisch definierter Figuren möglichst wirklichkeitsnah wiedergegebenen Kernformen,
- b) der morphometrisch bestimmten Kernvolumina,
- c) der gesamten Mikrotubulilänge (Mikrotubuligehalt),
- d) der Zellvolumina und
- e) aus der in Abb.27 dargestellten Abhängigkeit des Quotienten aus Kernoberfläche und Zellvolumen von
 - I. den Phasen des Zellzyklus und
 - II. dem Zellvolumen

lassen sich folgende Zusammenhänge erkennen:

1. In Anbetracht der Tatsache, daß der frühe Prophasekern noch mehr oder weniger rundliche Gestalt hat (vgl.5.2.2.), zeigt besonders der Vergleich von Kernen gleicher Größenordnung in der Tab.3, daß die Kernstreckung vorwiegend während der Prophase und nur in geringem Maße während der Meta- bzw. Anaphase vollzogen wird. Aus der Formenvariabilität der Kerne geht ferner hervor, daß der Längenunterschied zwischen dem Metaphasekern (3) und dem späten Anaphasekern (8) nicht zwangsläufig als eine während der Anaphase erfolgende Kernverlängerung interpretiert werden darf. So hat zum Beispiel der größere späte Anaphasekern (7) nur etwa die Länge des kleineren frühen Anaphasekerns (6). Damit gibt es mehr Anzeichen dafür, daß die Länge eines Anaphasekerns von der während der Metaphase erreichten Länge bestimmt wird, wenngleich eine Verlängerung während der Anaphase nicht vollkommen ausgeschlossen werden kann.
2. Aus der Abb.27 geht hervor, daß die experimentell bestimmten Daten zu den Quotienten aus der Kernoberfläche und dem Zellvolumen hinreichend genau auf dem mathematisch für formenmäßig idealisierte Kerne ermittelten Kurvenband liegen. Voraussetzung für diese Übereinstimmung war die Wahl von Zellvolumina in den Bandbreiten 100-200, 200-400, 400-800, 800-1600 und 1600-3200 μm^3 . Dementsprechend liegt das minimale Volumen einer zur Mitose fähigen Zelle bei ca. 200 μm^3 . Dafür liefert auch die Tabelle 3 Hinweise. Es folgt daraus, daß Zellen mit einer Volumenbandbreite von 200-400 μm^3 einen Mitoseschritt, solche von 400-800 μm^3 zwei

Tab.3:

idealisierte Form der Kerne	Kernvolumen (μm^3)	Mikrotubuli- länge (μm)	Zellvolumen (μm^3)
(1) 	24,9	930	310 ^x
(2) 	ca.15,2	ca.1110	ca.190 ^x
(3) 	17,3	1290	220 ^x
(4) 	32,6 32,2 30,2 32,5	-- 1210 -- --	408 370 377 406
(5) 	50,7	2250	630 ^x
(6) 	33,0	--	420 ^x
(7) 	47,0	-	590 ^x
(8) 	19,4	1190	240 ^x

^x: In diesen Fällen konnte nur das Kernvolumen bestimmt werden.

Zur Abschätzung der Zellvolumina wurde ein Kernanteil von

8% in Pro- bis Anaphase zugrundegelegt (Gaffal et al. 1983).

Beim Kern (2) fehlten technisch bedingt ca.20 Schnitte.

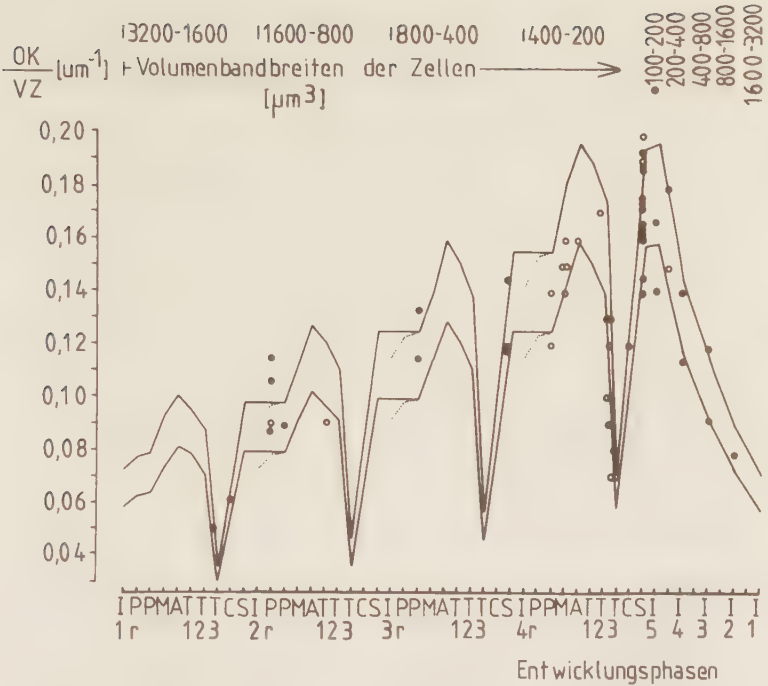


Abb.27: Beziehung zwischen Kernoberfläche (OK) und Zellvolumen (VZ) als Funktion des Zellzyklus. Die Bandbreite der Zellvolumina je Teilungszyklus, die sich aus der Multiplikation der Volumenbandbreite junger Tochterzellen (ca. $100-200\mu\text{m}^3$) mit dem Faktor 2^n (n =Zahl der Teilungszyklen) ergibt, ist gegenüber den Angaben bei Gaffal et al. (1983) modifiziert. Die wichtigsten Phasen des Teilungszyklus (I= Interphase, Pr=Preprophase, P=Prophase, M=Metaphase, A=Anaphase, T1=Telophase bei 6,5%, T2=Telophase bei 5% und T3=Telophase bei 2% Kernanteil am Zellvolumen, C=Cytokinese bei 5% Kernanteil am Zellvolumen, S=Tochterzellen im Sporangium) sind auf der x-Achse aufgetragen ohne die wirkliche Zeitdauer der entsprechenden Phasen zu berücksichtigen. Gepunktete Linien deuten die Möglichkeit an, daß die Teilung auch bei diesen Volumina beginnen kann, und representieren die Werte für Interphase und Preprophase, die dem jeweils ersten Teilungszyklus vorausgehen. Das Kurvenband basiert auf den mathematisch aus der idealisierten Zell- und Kerngeometrie ermittelten Verhältnissen zwischen Kernoberfläche und Zellvolumen, und stimmt ausreichend genau mit den experimentell ermittelten Daten überein. ○ Daten aus der vorliegenden Untersuchung. ● Daten aus einer früheren Untersuchung (Gaffal et al. 1982).

Mitoseschritte vollziehen können usw.. Die Zahl der Mitosen in Folge hängt also vom gegebenen Zellvolumen ab.

3. Vergleicht man die Gesamtlänge der Mikrotubuli mit den Zellvolumina (Tabelle 3) unter Berücksichtigung der Volumenbandbreiten (Abb.27), so stellt man fest, daß im Volumenbereich von $200\text{--}400\mu\text{m}^3$ die Gesamtlänge der Mikrotubuli nur zwischen 1110 und $1290\mu\text{m}$ (Prophase ausgenommen) schwankt. Besonders deutlich wird diese Konstanz des Mikrotubuligehaltes bei der Gegenüberstellung der Metaphasekerne (3) und (4). Obgleich im Volumen etwa um den Faktor 1,9 voneinander verschieden, haben sie fast identischen Mikrotubuligehalt. Innerhalb des nächsten Volumenbereichs ($400\text{--}800\mu\text{m}^3$) existiert zwar nur ein Wert zur Gesamtlänge der Mikrotubuli ($2250\mu\text{m}$), trotzdem ist augenfällig, daß dieser Wert etwa doppelt so hoch liegt wie im vorausgehenden Volumenbereich. Demnach ist der Mikrotubuligehalt ebenfalls mit der Zahl der noch möglichen Mitosen (=Teilungskapazität) korreliert.

5.2.8.Kinetochore

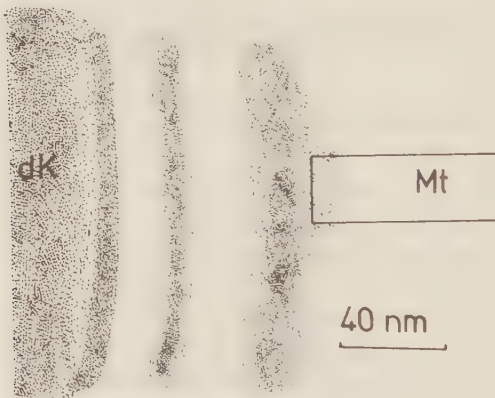


Abb.28: Schematische Darstellung eines längsgeschnittenen Kinetochors. Zwei transparente Zonen trennen die 3 Lagen kontrastreicher Substanz, von denen die innerste Lage direkt dem "dichten Kernmaterial" (dk) ansitzt, und die äußere Lage die Mikrotubuli (Mt) trägt.

Ohne erkennbare qualitative Veränderungen sitzen von der Prometaphase an bis zur späten Anaphase Kinetochore am dichten Kernmaterial. Ihre Struktur ist in Abb.28 schematisch wiedergegeben und in Fig.63 belegt. Sie bestehen aus 3 osmiophilen Scheiben (Durchmesser: ca. 150nm), deren innerste (Dicke: ca. 10nm) dem dichten Kernmaterial anliegt. Unterbrochen von jeweils einer transparenten Scheibe folgen eine mittlere (Dicke: ca. 10nm) und eine äußere (Dicke: 25nm) Lage, an der die Kinetochormikrotubuli enden. Es entsteht der Eindruck, daß amorphes Material der äußeren Lage die Tubulusenden umschließt. Analysiert man die

Kinetochorstruktur an günstigen Schnittserien, so findet man von innen nach außen gehend dichtes Kernmaterial (Fig.64a: Kinetochor 1), dem ein kreisförmiges Areal folgt, das transparenter erscheint als das umgebende Karyoplasma (Fig.64b: Kinetochor 1). Die geringe Dichte läßt sich vermutlich darauf zurückführen, daß in diesem Schnitt die beiden am Längsschnitt beschriebenen (Fig.63) transparenten Schichten enthalten sind. In dem auf das transparente Areal folgenden Querschnitt sind dann erste Mikrotubuliprofile enthalten (Fig.64c: Kinetochor 1). Sind die Komponenten des Kinetochors anders auf die Schnitte verteilt, dann existieren weit geringere Kontrastunterschiede im Bereich des Kinetochors (Fig.64: Kinetochor 2). In solchen Fällen tauchen Kinetochormikrotubuli bereits im Folgeschnitt auf. In jedem Fall sind die Mikrotubuliprofile im ersten Schnitt, in dem sie sichtbar werden, in amorphes Material eingebettet, das wahrscheinlich wieder in Abhängigkeit von der Aufteilung des Kinetochors auf die Querschnitte mehr (Fig.65b) oder weniger (Fig.64c) dicht erscheint als das umgebende Karyoplasma. In dieses Material strahlen von der Tubuluswand ca. 3nm dicke und bis zu 15nm lange Filamente ein. Die Einbettung der Kinetochormikrotubulienden in dichte Substanz ist insofern bemerkenswert, als sonst sowohl Kinetochormikrotubuli schon ca. 50nm nach ihrem Ursprung wie auch Nichtkinetochormikrotubuli über ihre ganze Länge von einem mehr oder weniger deutlichen ca. 4-6nm breiten transparenten Hof umgeben sind. Die ersten Anschnitte der Kinetochormikrotubuli sind gelegentlich C förmig. Sie repräsentieren möglicherweise schräg abgeschnittene Mikrotubulienden. Sie setzen sich nämlich schräg zur Schnittebene verlaufend weiter fort (Fig.64c,d: Kinetochor 2).

Während im Metaphasekern Nichtkinetochormikrotubuli die Kinetochorfaser (=Gesamtheit der Kinetochormikrotubuli) erst weiter polwärts durchkreuzen, wird im späten Anaphasekern die Kinetochorfaser sofort nach ihrem Ursprung von schräg verlaufenden Nichtkinetochormikrotubuli durchzogen.

Die Kinetochormikrotubuli sind öfter gebündelt als in einer Ebene angeordnet, d.h. im Querschnitt ergibt sich das Muster eines Dreiecks oder Vielecks (Abb.29a,b;30a,b). In der Querschnittserie durch den Metaphasekern gelang es weitgehend, die einander gegenüberstehenden Schwesterkinetochore aufzufinden. Dies ermöglicht den Vergleich der Mikrotubulizahl und des Musters der Mikrotubuliinsertion zwischen den Schwesterkinetochoren. In der Regel variiert die Zahl der sich an Schwesterkinetochoren gegenüberstehenden Mikrotubuli nicht sehr stark. Doch wurde auch beobachtet, daß an einem Kinetochor ein Tubulus und an seiner Schwester 3 Tubuli endeten (13 in der Abb.29a,b). Bezüglich des Insertionsmusters der Mikrotubuli lassen sich durchaus Parallelen zwischen

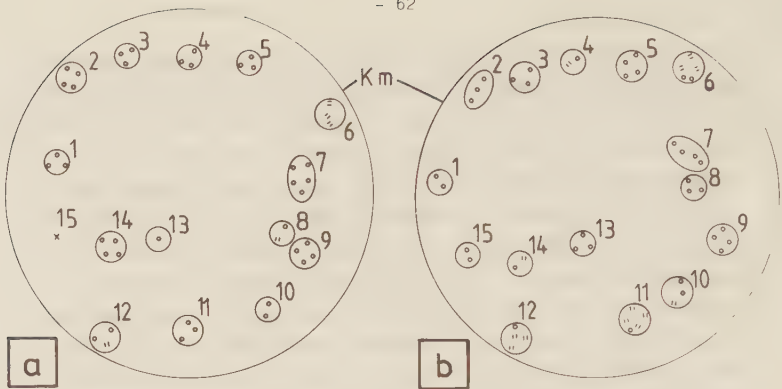


Abb.29: In eine Ebene projizierte Verteilungsmuster der Kinetochore (Kreise und Ellipsen) auf der einen (a) und der anderen (b) Seite der Metaphaseplatte. Die Numerierung der Kinetochore erfolgte zwar willkürlich, aber auf beiden Seiten in identischer räumlicher Reihenfolge. Kinetochor 15 konnte nur auf einer Seite (b) erkannt werden. Die Insertionsmuster der Kinetochormikrotubuli (kleine Kreise = querschnittene Mikrotubuli bzw. parallele Striche = schräg getroffene Mikrotubuli) können sich sowohl zwischen den einzelnen Kinetochoren einer Seite als auch zwischen Schwesterkinetochoren unterscheiden. Kernmembran (Km).

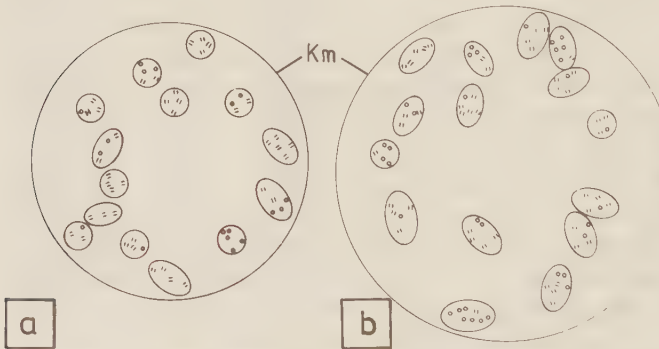


Abb.30: In eine Ebene projizierte Verteilungsmuster der an beiden Anaphaseplatten (a,b) ansetzenden Kinetochore (Kreise und Ellipsen). Da sich die Verteilungsmuster a und b nicht zur Deckung bringen lassen, ist es auch nicht mehr möglich, Schwesterkinetochore zu identifizieren. Die Kinetochormikrotubuli sind hier im Vergleich zum Metaphasekern (Abb.29) wesentlich häufiger schräg (parallele Striche) als quer (kleine Kreise) geschnitten. Kernmembran (Km).

den Schwesterkinetochoren erkennen. Im Extremfall standen jedoch 4 im Querschnitt sich an den Ecken eines Quadrats befindenden Tubuli 3 in einer Reihe angeordnete gegenüber (2 in der Abb.29a,b). In der Anaphase war eine Zuordnung der Kinetochore zwischen den Anaphaseplatten nicht möglich. Offensichtlich erfolgen in diesem Stadium nicht nur polwärts gerichtete, sondern auch laterale Bewegungen, die die während der Metaphase weitgehend gegebene Spiegelsymmetrie zerstören. Die Kinetochore selbst liegen in Meta- und Anaphase bevorzugt in der Kernperipherie.

Aus der Analyse der Serienschnitte erhobene Befunde zu den Kinetochoren und ihren Mikrotubuli sind in Tab.4 zusammengefaßt.

Die ermittelte Kinetochorzahl schwankt zwischen 14 und 15. Das liegt zum einen daran, daß in der Metaphase nur ein Tubulus pro Kinetochor möglich ist, der, vor allem wenn er schräg getroffen ist, sehr leicht seiner Erfassung als Kinetochormikrotubulus entgeht. Zum zweiten erschweren Verunreinigungen auf den Schnitten die Erkennung der Kinetochore. Unter diesen Aspekten entspricht die Zahl 15 eher der Zahl der in Wirklichkeit existierenden Kinetochore als die Zahl 14. Die Gesamtlänge der Kinetochormikrotubuli nimmt von Meta- zu Anaphase hin ab. Schlüsselst man die Werte für die beiden Halbspindeln auf, so zeigt sich, daß zumindest in der Anaphase die Gesamtlänge der Kinetochormikrotubuli in der linken Halbspindel nur ca. 30% der der rechten Halbspindel beträgt. Ein Blick auf den schematisierten Längsschnitt dieses Kerns (Abb.21) zeigt auch, daß die linke Anaphaseplatte dem Kernpol näher liegt als die rechte. Die Gesamtlänge der Kinetochormikrotubuli variiert also mit der Annäherung der Anaphaseplatten an die Kernpole innerhalb eines Kerns. Dementsprechend differieren auch die durchschnittlichen Längen der Kinetochormikrotubuli in den beiden Halbspindeln (100%). Ein geringerer (25%) Unterschied besteht in der durchschnittlichen Mikrotubulizahl pro Kinetochor zwischen den beiden Halbspindeln.

Nimmt man den Vergleich zwischen Meta- und Anaphase wieder auf, so ist festzustellen, daß der untersuchte Metaphasekern in seinen die Kinetochore betreffenden Werten weitaus symmetrischer ist als der späte Anaphasekern (vgl. auch Abb.19 und 21). Untereinander existieren jedoch neben den bereits erwähnten Unterschieden in der Gesamtlänge der Kinetochormikrotubuli weitere Differenzen. Die durchschnittliche Mikrotubulizahl pro Kinetochor hat im Metaphasekern einen um 37% geringeren Wert, dagegen liegt die durchschnittliche Länge der Kinetochormikrotubuli um 46% höher. Die Abb.32 zeigt die Kinetochormikrotubuli für die beiden Halbspindeln des Meta- und Anaphasekerns in einer Weise, wie sie von der Rekonstruktion des gesamten Mikrotubulinventars der beiden Kerne her vertraut ist (Abb.22b,c).

Tab. 4:

		gesamte Kinetochor= mikrotubulilänge (µm)	Kineto= chorzahl	gesamte Kinetochor= mikrotubulizahl	durchschnittl. Mikro= tubulizahl/Kinetochor	durchschnittl. Kinetochor= mikrotubulilänge (µm)
Metaphase (Querschnitt= serie)	li.Hs.	137	14	43	3,1	3,2
	Summe	271		92	3,2	3,0
	re.Hs.	134	15	49	3,3	2,7
Metaphase (Längsschnitt= serie)	li.Hs.		11+4 ^x			
	re.Hs.		11+4 ^x			
Anaphase (Querschnitt= serie)	li.Hs.	48	14	58	4,1	0,8
	Summe	204		140	4,8	1,3
	re.Hs.	156	15	82	5,5	1,9
Anaphase (Längsschnitt= serie)	li.Hs.		14			
	re.Hs.		15			

x: Im längsgeschnittenen Metaphasekern waren 7 Kinetochore eindeutig auf jeder Seite der Äquatorialplatte zu erkennen. Dazu kamen noch auf jeder Seite 4 verschiedene Kinetochore, denen kein Schwesterkinetochor zugeordnet werden konnte. Es wurden also in jeder Halbspindel 11 Kinetochore beobachtet und 4 extrapoliert.
(linke/rechte Halbspindel= li./re. Hs)

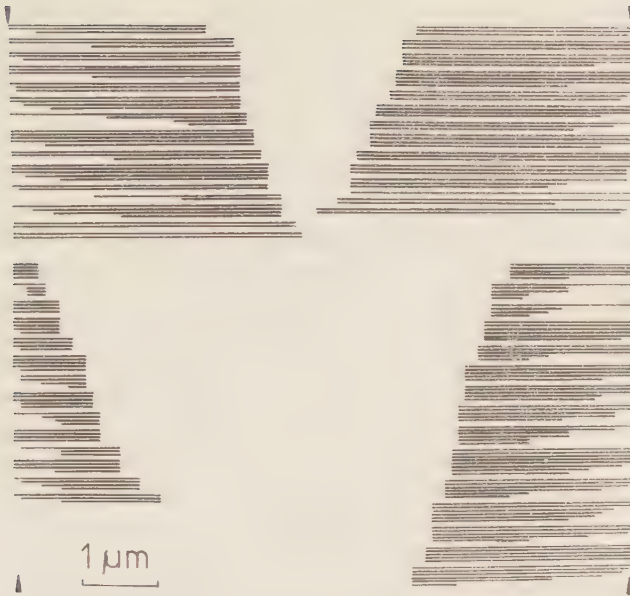


Abb.31: Länge, Zahl und "Gruppierung" der Kinetochormikrotubuli für die 2 Halbspindeln eines Metaphase- (oben) und Anaphasekerns (unten). Die einzelnen Kinetochorfasern sind jeweils durch einen doppelten Zwischenraum getrennt und ohne Berücksichtigung ihrer tatsächlichen Lage im Kern der Länge nach aufgetragen. Auswertegrenze (▲), Vgl. Abb.22b,c.

5.3.Telophase

5.3.1.Kerngestalt und intranukleäre Mikrotubuli

Die Endbereiche der zigarrenförmigen Telophasekerne (Abb.33a;Fig.35; 66) nehmen das "dichte Kernmaterial" der abgerundeten Anaphaseplatten auf. Im Raum zwischen ihnen sind längs verlaufende Mikrotubuli zu erkennen, die auch in das "dichte Kernmaterial" hineinlaufen. Gelegentlich ist die Kernmembran der Interzonalregion unterbrochen.

Die Abtrennung der Tochterkerne wird durch Verjüngung des Kerns im Bereich der Interzonalspindel eingeleitet, was einen hantelförmigen Kern zur Folge hat (Abb.33b;Fig.36;67). Dessen Endstücke sind mit "dichtem Kernmaterial" gefüllt. Intranukleäre Mikrotubuli können über den ganzen Zeitraum der Telophase nur oberflächlich beschrieben werden, da kein exakt querschnittener Kern aufzufinden war. Dies ist jedoch für eine zuverlässige Auswertung nötig, wie sie an den vorausgehenden Mitosekernen praktiziert wurde. Möglicherweise ist das auf die gekrümmte Gestalt mancher dieser Kerne zurückzuführen, wie sie sich bereits in der späten Anaphase zeigen kann (Fig.49). Immerhin läßt sich feststellen,

daß in einem untersuchten Kern (Volumen: $17,9\mu\text{m}^3$) die Mikrotubulizahl beim Erreichen des hantelförmigen Stadiums über die ganze Kernlänge abgenommen hat. Die Zahl der Mikrotubulipprofile in einem für die Interzonalregion repräsentativen Querschnitt dieses Kerns liegt ca. 35% unter der eines vom Volumen ($19,4\mu\text{m}^3$) her vergleichbaren Anaphasekerns. Die Mikrotubuli haben sich in Kernmitte weitgehend zu Bündeln aus 2-5 Mikrotubuli zusammengefunden. Im endständigen "dichten Kernmaterial" findet man dagegen eine gleichmäßige Verteilung der Mikrotubulipprofile.

In weiter fortgeschrittenen Telophasestadien wird der Kern zunehmend irisblendenartig an 3 Stellen bis zur vollständigen Trennung eingeschnürt (Fig.67). Die Durchschnürung in der Hantelmitte führt zunächst zu 2 pilzförmigen Kernfragmenten, die in der Folge durch die Konstriktion am Übergang zwischen "Stiel und Hut" in jeweils 2 Teile zerlegt werden (Fig.68). Die beiden endständigen, größeren Teile enthalten "dichtes Kernmaterial" und stellen die künftigen Tochterkerne dar. Die beiden kleineren Kernfragmente lösen sich auf (Fig.69; Abb.33c). Alle Kernabkömmlinge enthalten gelegentlich Mikrotubulipprofile, die parallel zur ursprünglichen Kernlängsachse orientiert sind. Die Tochterkerne verbleiben in der Regel getrennt voneinander an entgegengesetzten Zellpolen in einer Position, wie sie von ihren Vorläufern schon im Stadium der hantelartigen Kerngestalt eingenommen wurde. Erst mit fortschreitender Cytokinese nähern sich die Tochterkerne einander und flankieren die Membran des Teilungsspalt (vgl. Abb.34).

5.3.2. Basalkörperkomplexe

Die Basalkörper liegen auch während der Telophase über den Kernenden unterhalb der Plasmamembran. Ihre Orientierung zueinander zeigt keine Veränderung gegenüber den Meta- und Anaphaseverhältnissen. Im Vergleich zur Metaphase war nur eine Verlängerung der Probasalkörper zu beobachten (ca. 200nm), die über ihre ganze Länge die sogenannte Wagenradstruktur enthalten.

Verglichen mit der Prophasezelle (5.1.1.), hat sich am bogenförmigen Verlauf der großen Wurzelfaser offensichtlich nichts verändert; dagegen ist die in Bezug auf die senkrecht zur Verbindungslinie zwischen den Kernpolen orientierte Äquatorialebene des Kerns (=Symmetrieebene) umgekehrt spiegelsymmetrische Lage der beiden Wurzelfasern verlorengegangen. In eines der von Telophasezellen gebauten Modelle ist der Verlauf der Wurzelfasern aufgenommen; sie begleiten den Teilungsspalt (Fig.27). Dieser liegt nicht senkrecht sondern schräg zu der Verbindungslinie zwischen den Kernpolen.

Neben der vollständig ausgebildeten Wurzelfaser treten über dem proximalen Ende des zweiten Basalkörpers 3-5 Mikrotubuli auf, die bis zu 500nm entgegengesetzt zu der Wurzelfaser, die mit dem Teilungsspalt einhergeht,

in das Cytoplasma führen. Offenbar handelt es sich um die in Entwicklung begriffene zweite große Wurzelfaser. In Telophasezellen mit 2 getrennten Tochterkernen (Fig.69) liegen in vertrauter Interphaseorientierung auch 2 kleine Wurzelfasern vor, ohne daß Bildungsstadien entdeckt worden wären.

Neben dieser Vervollständigung des Basalkörperkomplexes durch die Wurzelfasern müssen für die Telophase- und Cytokinesestadien mit getrennten Tochterkernen im Basalkörperkomplex weitere Details angesprochen werden, was an Hand einer schematischen Zeichnung leichter fällt (Abb.32). Der Winkel zwischen den in einer Ebene liegenden Längsachsen der Basalkörper beträgt ca. 90° ; er hat also gegenüber dem während der Metaphase vorliegenden Winkel zugenommen. Die Probasalkörper haben eine Länge von ca. 300nm erreicht und ihr proximales Ende liegt nicht mehr in direkter Nachbarschaft zu einem reifen Basalkörper, sondern um etwa einen Basalkörperdurchmesser weit unterhalb. Auch die Stellung im rechten Winkel zum reifen Basalkörper ist verlorengegangen (Fig.70a,b,c). Letzteren sitzt ein ca. 750nm langer Geißelstumpf ohne zentrales Mikrotubulipaar auf (Fig.70e,f,g). Die sogenannte Übergangsregion zwischen Basalkörper und Geißel enthält eine vollständige sternförmige Struktur (Fig.70d). Apikal enden die Doppeltubuli auf unterschiedlichem Niveau. In der Regel ist der A-Tubulus länger sichtbar als der B-Tubulus. Eine distale Verbindung zwischen den Basalkörpern ist vorhanden. Die begrenzte Anzahl von Schnittserien aus den Stadien der Morphogenese des Basalkörperkomplexes erlaubt keine Aussage über den Zeitpunkt und den Modus der Entstehung weiterer Strukturdetails, die in der Interphase im Basalkörper anzutreffen sind und dort beschrieben wurden.

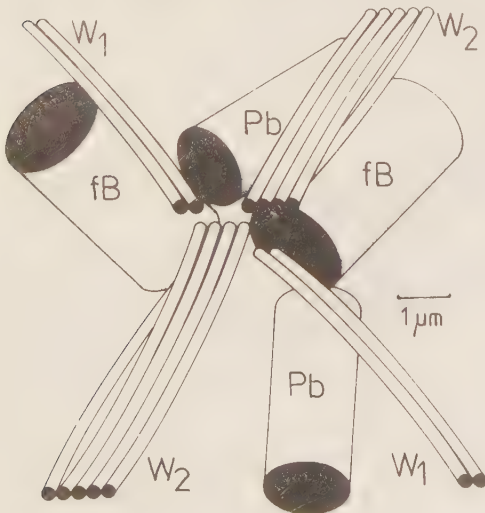
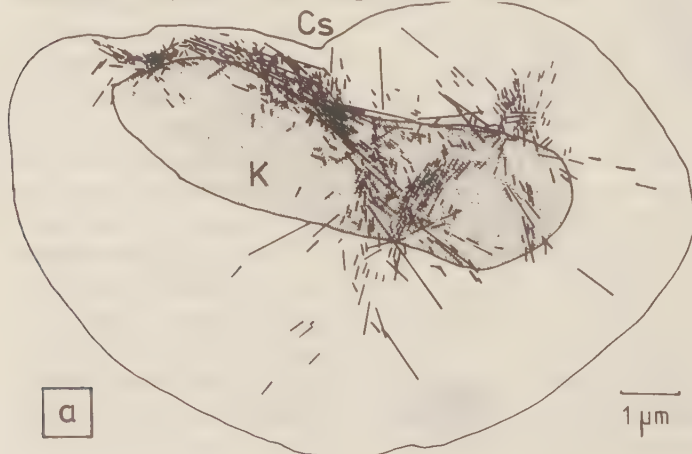


Abb.32: Stark vereinfachte Darstellung des Basalkörperkomplexes einer Telophasezelle mit getrennten Tochterkernen. Der im Vergleich zu den künftigen flagellentragenden Basalkörpern (fB) geringere Durchmesser der Probasalkörper (Pb) beruht auf ihrem Aufbau nur aus peripheren Einzelmikrotubuli. Kleine Wurzelfaser (W1); große Wurzelfaser (W2).

5.3.3.Cytoplasmatische Mikrotubuli

Von 3 Telophasezellen, die in Abb. 33a-c an Hand des Kernverhaltens chronologisch angeordnet sind, wurden die cytoplasmatischen Mikrotubuli rekonstruiert. Die von den Basalkörpern sternförmig in das Cytoplasma führenden Mikrotubuli liefern nur einen verhältnismäßig kleinen Beitrag zum cytoplasmatischen Mikrotubuliinventar. Vergleichsweise auffälliger erscheinen Mikrotubuli, die, ausgehend von den beiden Wurzelfaserzügen, zum geringeren Teil seitwärts, zum größeren Teil aber basalwärts in das Cytoplasma ziehen. Mit dem Fortschreiten der Telophase ist zu beobachten, daß sowohl die Länge als auch die Zahl der wurzelfas ASSOZIIERTEN Mikrotubuli im Bereich des sich parallel dazu vertiefenden Cytokinespalts zunehmen. Die Tiefe des Cytokinespalts ist in den Rekonstruktionen nicht sichtbar, da 1. in ihnen immer die größten Zellprofile eingezeichnet werden und 2. die Schnittebene nicht zufällig sowohl durch die tiefste Stelle des Cytokinespalts als auch durch den flächenmäßig größten Anschnitt verläuft. Die Mikrotubuli kleiden, von der Wurzelfaser her kommend, den Cytokinespalts aus und reichen über dessen unteres Ende hinaus in den Bereich, durch den offensichtlich der Teilungsspalt weitergeführt wird.

Die Ultrastruktur der Stirnseite des Cytokinespaltes soll in einer kleinen Schnittserie demonstriert werden (Fig.72), die aus einer Telophasezelle mit 2 getrennten Kernen stammt. Die beiden bogenförmig verlaufenden Wurzelfaserzüge begegnen sich in der Mitte der sichelförmig gewölbten Front des Cytokinespaltes (Fig.72b). Unterhalb der Begegnungszone (Fig.72c,d) werden wenige quergeschnittene Mikrotubuliprofile, dagegen viele auf kurzer Strecke längsgeschnittene Profile sichtbar. Die Mikrotubuli entspringen somit offensichtlich an der Wurzelfaser und streben in spitzen Winkel divergierend der Zellbasis zu.



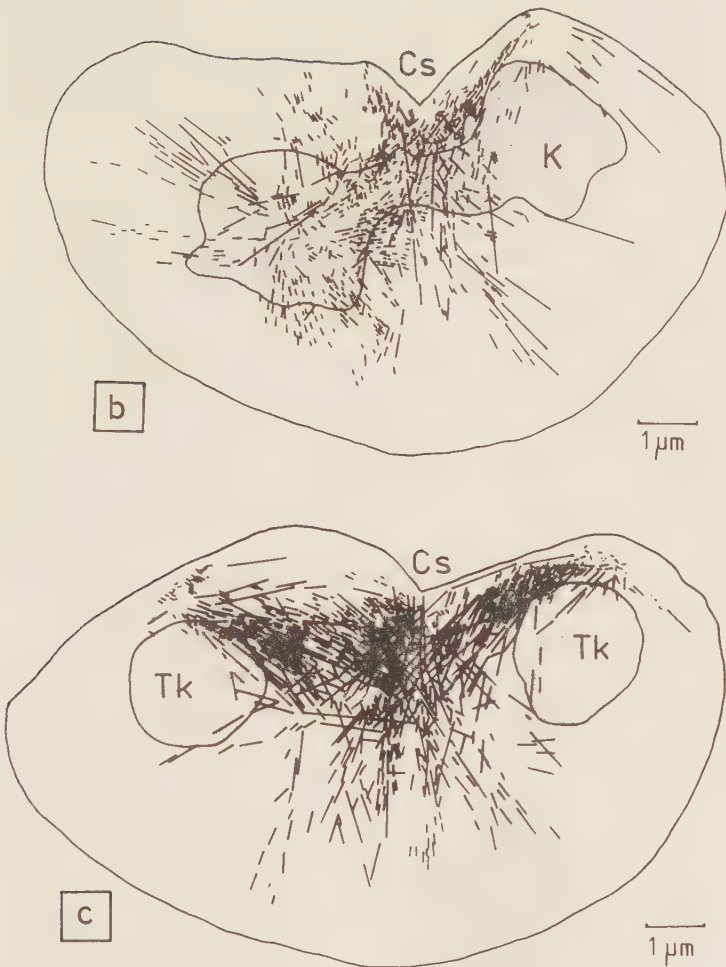


Abb.33: In eine Ebene projizierte Profile des cytoplasmatischen Mikrotubuliinventars von unterschiedlich weit in der Entwicklung fortgeschrittenen Telophasezellen mit a) zigarrenförmigem Kern (K), b) hantelförmigem Kern (K) und c) bereits getrennten kugeligen Tochterkernen (Tk). Im Bereich um die durch den Einschnitt (Cytokinesespalt=Cs) gekennzeichnete Äquatorialebene kommt es von a nach c fortschreitend zunehmend zu einer Anreicherung von Mikrotubuli. Die 3 Graphiken sagen nichts über die ebenfalls von a nach c fortschreitende Vertiefung des Cytokinespalts (vergl. Text).

6. Cytokinese

Im Zuge der fortschreitenden Cytokinese entfernen sich die Tochterkerne entlang des Cytokinespalts von den Basalkörpern. Aus dem "dichten Kernmaterial" reorganisiert sich der Nukleolus, wobei in steigendem Maße auch die beginnende Kompartimentierung in fibrilläre und granuläre Zonen erkennbar wird.

Kurz vor der vollständigen Trennung sind die beiden Tochterzellen noch durch einen Cytoplasmastrang miteinander verbunden, der in der Regel etwa auf der Höhe des unteren Drittels der Tochterzellängsachsen liegt (Fig.71). Dementsprechend erfolgt die Durchschnürung (Furchung) zwar von allen Seiten, aber unterschiedlich effektiv.

Während in Bezug auf die Basalkörper, wie schon unter 5.3.2. erwähnt, keine Umgestaltungen eingetreten sind, hat sich der Verlauf der Wurzelfaserzüge wieder der Interphasesituation angenähert. Wurzelfasermikrotubuli ziehen nach ihrem Ursprung in der basalkörperhaltigen Region unter der Plasmamembran in den bereits etwas verlängerten Zellen basalwärts. Sie verlaufen parallel zu den anderen ebenfalls dem corticalen System angehörenden Mikrotubuli. Im Bereich, in dem die beiden Tochterzellen noch durch einen Cytoplasmastrang in Verbindung stehen, laufen corticale Mikrotubuli senkrecht zum Strang und parallel zur Zellängsachse. Daneben kann man auch wieder zentrale Mikrotubuli feststellen, die ihren Ausgang unterhalb der Basalkörper nehmen, und als Einzelmikrotubuli oder Aggregate aus höchstens 3 Mikrotubuli basalwärts ziehen.



Abb.34: In eine Ebene projizierte Profile der cytoplasmatischen Mikrotubuli innerhalb einer der beiden noch durch einen Cytoplasmastrang (Ct) miteinander verbundenen Zellhälften kurz vor Beendigung der Cytokinese. Die Mikrotubuli befinden sich bevorzugt in der zum Cytokinespalt (Äquatorialebene) zeigenden Längshälfte der zukünftigen Tochterzellen. Kern (K).

Die dem Cytokinespalt zugewandte Zellhälfte wird dabei bevorzugt (Abb.35). Senkrecht zur Längsachse verlaufende Mikrotubuli befinden sich vornehmlich in der Zellbasis. Nach Projektion in eine Ebene verlaufen die Mikrotubuli entlang eines die Zellbasis vollständig durchziehenden Bogens, ohne jedoch in die benachbarte Schwesterzelle einzustrahlen.

7.Tochterzellen

Entwicklungsstadien nach Abschluß der Cytokinese, die auch bereits von einer Zellwand umschlossen sein können und noch innerhalb der Hülle des Sporangiums liegen, werden als Tochterzellen bezeichnet. In ihren Kernen ist die Reorganisation des Nukleolus in der Regel abgeschlossen. Solange die Tochterzellen noch keine Zellwand gebildet haben, liegt der Kern peripher. Nach der Zellwandbildung ist er im Zellzentrum anzutreffen. Gleichzeitig verlieren die Zellen ihre mehr oder weniger unregelmäßige Form. In Verbindung mit einer Streckung werden sie rotationssymmetrisch (vgl. Fig.73 und Fig.74) und nehmen so immer mehr die endgültige Eiform der typischen Interphasezelle an.

7.1.Basalkörperkomplexe

In den Basalkörperkomplexen der Tochterzellen (Abb. 35) schließen die Längsachsen der Basalkörper einen Winkel von ca. 140° ein. Sie liegen in 2 parallelen Ebenen, die um einen halben Basalkörperdurchmesser gegeneinander versetzt sind. Nahezu senkrecht zu diesen Ebenen stehen die Längsachsen der Probasalkörper unterhalb der Basalkörper. In den vorliegenden Serien lassen sie sich durch 4-5 Querschnitte erfassen, was einer Länge von 340-420nm gleichkommt. Ihre Länge übersteigt damit die der reifen Basalkörper (ca. 300nm) und die der zusätzlichen Basalkörper während der Interphase (ca. 120nm). Die Probasalkörper besitzen jetzt jedoch im Vergleich zu den vorausgehenden Zellzyklusstadien keinen einheitlichen Aufbau. Vor allem die Stelle, an der die Tubuli B und C der Triplets enden und sich nur noch Tubulus A als Einzeltubulus fortsetzt, liegt entlang verschiedener Probasalkörper auf unterschiedlichen Niveaus. So waren Triplets über $1/5$, $1/2$ (Fig.75), und $4/5$ der Länge von Probasalkörpern vorhanden. Bemerkenswerterweise sind die Probasalkörper so orientiert, daß nicht die Triplettenden, sondern die Enden der Einzeltubuli zu den flagellenassoziierten Basalkörpern zeigen. Die Wagenradstruktur im Probasalkörper endet am Übergang von Einzelmikrotubuli zu Triplets. Die Wurzelfasern verlaufen in der von der Interphase her bekannten kreuzförmigen Anordnung.

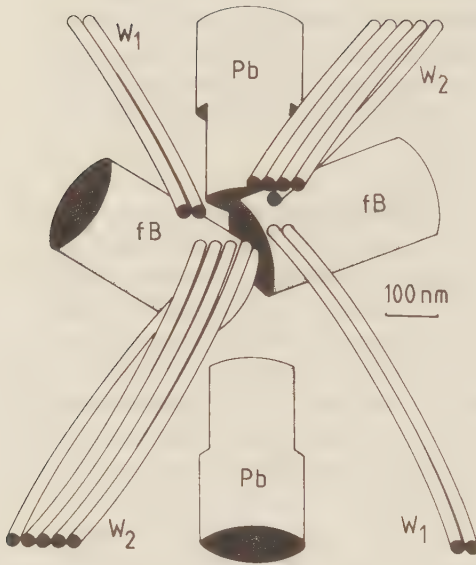


Abb.35: Stark vereinfachte Darstellung des Basalkörperkomplexes einer Tochterzelle vor der Wandbildung. Die unterschiedlichen Durchmesser entlang der Längsachse der Probasalkörper (Pb) sollen andeuten, wo 9 Tripletts (größerer Durchmesser), und wo nur 9 Einzelmikrotubuli vorhanden sind. In diesem Fall erfolgt der Übergang auf halber Höhe des Probasalkörpers.

(Vgl. Fig.75). Künftige flagellentragende Basalkörper (fB); kleine Wurzelfaser (W_1); große Wurzelfaser (W_2).

7.2.Cytoplasmatische Mikrotubuli

Wie schon erwähnt, bilden die Tochterzellen noch innerhalb der Sporangienhülle ihre Zellwand aus. Die Verteilung der cytoplasmatischen Mikrotubulimasse wurde aus Querschnittserien durch je eine langgestreckte Tochterzelle vor und nach der Zellwandbildung analysiert. In beiden Fällen können wieder zentrale und corticale Mikrotubuli unterschieden werden (Abb.36). Zentrale Mikrotubuli beginnen unterhalb der basalkörperhaltigen Region. In der wandlosen Zelle bleibt die Zahl der Profile zentraler Mikrotubuli pro Querschnitt entlang der apikalen Zellhälfte mehr oder weniger konstant (10-15), und nimmt dann kontinuierlich ab, um nach ca. 4/5 der Zelllänge den Wert 0 zu erreichen. Damit führt kein zentraler Tubulus bis zur Zellbasis. In der Tochterzelle mit Wand strebt die Zahl der zentralen Mikrotubuli pro Querschnitt bereits kurz unterhalb der Basalkörper einem Maximum zu. Es schließt sich eine kontinuierliche Abnahme der Mikrotubulizahl an. Ein Tubulus führt bis zur Zellbasis. Das Maximum der corticalen Mikrotubulizahl (93) liegt in der von einer Wand umschlossenen Zelle bereits ca. 2µm unterhalb des apikalen Pols und fällt zur Zellbasis hin beinahe linear bis zum Wert 5 ab. Bei der untersuchten Tochterzelle mit Zellwand wird die größte Zahl (89) der corticalen

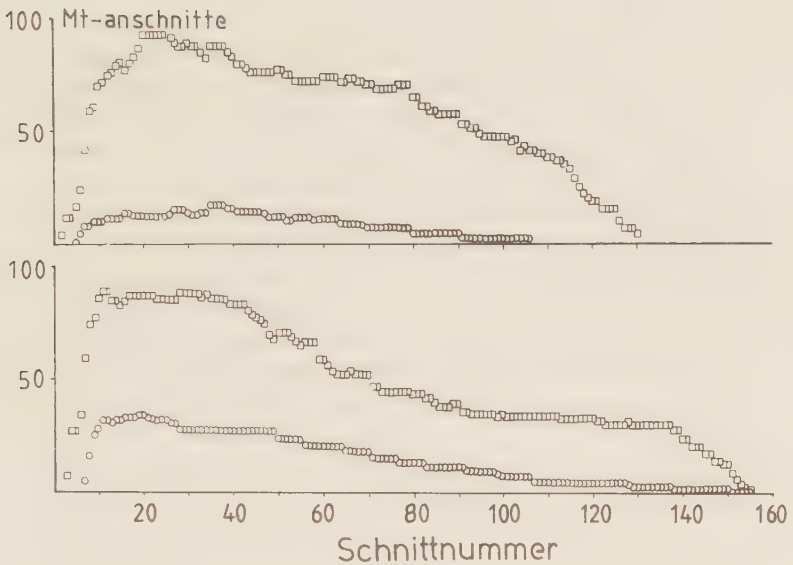


Abb.36: Verteilung der Anschnitte corticaler (□) und zentraler (○) Mikrotubuli entlang der Längsachse der Zellen. Je eine Tochterzelle vor (oben) und nach (unten) der Wandbildung wurde analysiert.

Mikrotubuli noch früher (ca. 800nm) unterhalb des apikalen Zellpols erreicht und bleibt über eine Länge von ca. 2,3µm konstant. Zunächst sinkt die Zahl beinahe linear entlang der nächsten ca. 4,5µm bis zum Wert 35 ab; nachdem über die Länge der nächsten 3µm nur ein flacher Abfall bis zum Wert 30 erfolgte, nimmt die Mikrotubuliprofilzahl über der Reststrecke wesentlich steiler bis zum Wert 2 ab. Die Daten zu den cytoplasmatischen Mikrotubuli der Tochterzellen sind in der folgenden Tabelle zusammengefaßt.

Tab.5:	Volumen (µm ³)	gesamte Mikro= tubulilänge (µm)	gesamte Länge der corticalen Mikro= tubuli (µm)	gesamte Länge der zentralen Mikro= tubuli (µm)
Zelle ohne Wand	138	740	660	80
Zelle mit Wand	179	840	650	190

Während die Gesamtlänge der corticalen Mikrotubuli zwischen den beiden Zellen kaum differiert, ist nach der Wandbildung ein Anstieg in der Masse der zentralen Mikrotubuli festzustellen, die in der Interphase dann den Hauptanteil der cytoplasmatischen Mikrotubuli stellen (vgl. Abb.3).

Wie schon in einem Anaphasekern demonstriert (Fig.55) wurden im corticalen Mikrotubulsystem der Tochterzellen 2 Mal Mikrotubulipaare entdeckt, von denen, wenn man in der Zelle basalwärts geht, sich einer unter Verlust eines Stücks seiner Wand in eine Rinne umwandelt. Ein Rand der Rinne fusioniert mit dem benachbarten geschlossenen Tubulus. Dieses Fusionsprodukt ist ca. $1,3\mu\text{m}$ lang. Dann endet entweder die Rinne abrupt, oder ihr Rand löst und entfernt sich wieder von seinem Nachbarn, um nach ca. 700nm aufzuhören.

In einer Tochterzelle mit Wand fanden sich in der Papille Mikrotubuli (Fig.76), deren weiterer Verlauf nicht bestimmt wurde.

IV Diskussion

1. Methodik

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit entstammen zum größten Teil der Analyse von Serien ultradünner Schnitte durch ganze Zellen oder Teile von ihnen. Die Vorteile dieser Arbeitsweise liegen in der Möglichkeit, die räumlichen Verhältnisse in den Zellen exakt zu beschreiben und absolute Mengen-, Längen-, Volumen- und Oberflächenwerte zu ermitteln. Zu den Nachteilen der Methode gehören ihre Störanfälligkeit und ihre schwierige und zeitaufwendige Handhabung. So muß in Kauf genommen werden, daß gelegentlich Schnitte beim Schneidevorgang verlorengehen oder durch Verschmutzungen nicht auswertbar sind. Solange es sich dabei um einzelne fehlende Schnitte handelt, ist die Überbrückung in der Regel problemlos. Fallen mehrere Schnitte in Folge aus, dann muß meist auf eine Auswertung verzichtet werden. Ausnahmen bilden Ausfälle in einer der spiegelbildlich vorhandenen Zellzonen, die, ohne größere Fehler einzubringen, ergänzt werden können. Angesichts der hohen Schnitzzahl (teilweise über 200) pro Serie, die photographisch dokumentiert und auch ausgewertet werden mußten, wird verständlich, daß schon aus Zeitgründen die Zahl der dermaßen detailliert untersuchten Objekte beschränkt bleiben muß. Auch das erschwerte Auffinden bestimmter besonders kurzlebiger Entwicklungsstadien setzt der Analyse Grenzen. Infolgedessen liegt von manchen Entwicklungszuständen nur eine Analyse vor, so daß weder Aussagen über die natürliche Variabilität der untersuchten Phänomene möglich sind, noch Statistik betrieben werden kann.

Zur Erhebung der Daten wurden 2 Ansätze herangezogen. In demjenigen, bei dem zur Anreicherung von großen Zellen eine Filtration in den Arbeitsgang eingebaut war, zeigten einige Zellen präparative Mängel. Die Vorfixierung wurde hier unüblicherweise durch Eingießen der Zellsuspension in gepufferte Glutardialdehydlösung vorgenommen, so daß das resultierende Gemisch aus Kultur- und Präparationsmedium bestand. Möglicherweise wich der osmotische Wert dieses Gemisches so stark von dem des reinen Präparationsmediums ab, daß darin die Ursache für die Schädigung liegt. Dieses abgewandelte Vorgehen war aber nötig, um den Zellen vor der Fixierung eine Zentrifugation zu ersparen. Solch eine Manipulation hätte sich auf die zellwandlosen Teilungsprodukte innerhalb der Sporangien auswirken können. Da die interessierenden Elemente in der Regel gut erhalten waren, wurde diese Einbettungscharge zur Untersuchung herangezogen; ein Kompromiß, der auch von anderen Strukturforschern (Pickett-Heaps & Weik 1977) eingegangen wird.

2. Der Basalkörperkomplex im Zellzyklus

2.1. Interphase

Die Ultrastruktur des Geißelapparates bei Grünalgen gewinnt als phylogenetischer Marker zunehmend an Bedeutung (Moestrup 1978; Melkonian 1980a; 1982). Der Vergleich des Erscheinungsbildes des Geißelapparates in den jeweiligen Interphasezellen oder in Zoosporen steht dabei im Vordergrund. Nach Ansicht dieser Phylogenetiker ist den mit den Basalkörpern assoziierten faserartigen Strukturen (Melkonian 1980a) und der Anordnung der Wurzelfaserzüge (Moestrup 1978) eine besondere Bedeutung beizumessen. Die fraglichen Strukturen befinden sich bei **Polytoma** im sogenannten Basalkörperkomplex. Darin und in der Tatsache, daß sich der Basalkörperkomplex während der Mitose von den Flagellen löst und nur dieser Teil des Geißelapparates auf die Tochterzellen verteilt wird, liegt eine gewisse Berechtigung, den Begriff Geißelapparat einzuengen und von Basalkörperkomplex zu sprechen.

Mit dem Besitz der bilateral symmetrisch quergestreiften Verbindung zwischen den beiden flagellentragenden Basalkörpern reiht sich **Polytoma** in eine Gruppe von Grünalgen ein, in denen eine solche faserartige Struktur gleichermaßen vorkommt (Melkonian 1980a). Die Vermutungen über die Funktion dieser distalen gestreiften Faser reichen von der festen Verbindung der Basalkörper (Ringo 1967), über die Koordination der Bewegung der beiden Flagellen (Hyams & Borisy 1975; 1978), bis zur Beteiligung an der Orientierung der Basalkörper zueinander (Watson 1975).

Weitaus unscheinbarer ist die zweite faserartige Verbindung im Basalkörperkomplex von **Polytoma**; eine gestreifte Struktur am proximalen Ende der flagellentragenden Basalkörper, die leicht der Erfassung entgehen kann. Es kann nicht ausgeschlossen werden, daß in dieser Region noch zusätzliche Fasern vorhanden sind. Melkonian (1978) vermutet, daß wie in der Gattung **Chlorosarcinopsis** in weiteren zweigeißeligen Grünalgen 3 proximale Verbindungsfasern existieren, die sich leicht der Beobachtung entziehen.

Melkonian (1980a) unterteilt basalkörperbürtige gestreifte Strukturen, in solche, die mit Mikrotubuli assoziiert sind (System I) und solche, die aus einem solitären Bündel von Filamenten aufgebaut sind (System II). Beide Systeme führen in das Cytoplasma und enden dort. Bei **Polytoma** ist Material unterhalb der Mikrotubuli der großen Wurzelfaser zum System I zu zählen. Mit einer Periodik von 40nm im Querstreifungsmuster überschreitet es zwar die angegebene Bandbreite von 25-35nm (Melkonian 1980a) stellt aber wahrscheinlich eine Ansatzstelle für cytoplasmatische Mikrotubuli dar; damit ist wieder ein von Melkonian (1980a) für diese faserartigen Strukturen als charakteristisch ge-

wertetes Merkmal gegeben. Zum System I gehört wohl auch das Material über der kleinen Wurzelfaser, in dem jedoch keine Querstreifung zu entdecken war. Die Einordnung dieses Elements in das System I ist aber gerechtfertigt, da die Querstreifung auch in anderen Objekten schwer aufzulösen ist (Goodenough & Weiss 1978). Die vorübergehende Aufspaltung der Faser in 2 Teile beim Durchgang durch die Basalkörperregion wurde bei **Polytoma** zum ersten Mal beobachtet.

Möglicherweise sind die kurzen seitlich am Basalkörper entspringenden Fortsätze als rudimentäre System-II-Fasern einzustufen. Immerhin liegt ihre Dicke mit 10nm noch im Bereich (5-10nm), den Melkonian (1980a) für die Bestandteile dieser Fasern angibt.

Fasern aus System I und System II könnten der Orientierung und der Verankerung des Geißelapparates in der Zelle dienen (Salisbury et al. 1981). Diese Aufgabe kommt möglicherweise auch den Mikrotubuli der Wurzelfaserzüge zu, die im folgenden angesprochen werden sollen.

Die kreuzweise Anordnung von 2 ungleich starken Wurzelfaserzügen wird durch die Formel $X-2-X-2$ (Moestrup 1978) beschrieben. Die Zahl der Mikrotubuli in der großen Wurzelfaser (X) variiert von 3 bis 8, während die Zahl der Mikrotubuli in der kleinen Wurzelfaser konstant 2 beträgt. Mit $X=5$ ist **Polytoma** identisch zu **Chlamydomonas** Ettl No 30 (Birbeck 1976), **Draparnaldia** sp. (Manton et al. 1955), **Eudorina illinoiensis** (Hobbs 1971), **Stigeoclonium** sp. (Manton 1964) und **Ulothrix** sp. (Manton 1965). Die Wurzelfaserzüge von **Frittschiella tuberosa** enthielten neben 5 Mikrotubuli auch andere Anzahlen von Mikrotubuli (Melkonian 1975). Hier zeigt sich schon, daß die Zahl der die große Wurzelfaser aufbauenden Mikrotubuli innerhalb einer Art variieren kann. Dies ist mit dem Auffinden eines dreisträngigen Wurzelfaserzuges für **Polytoma** belegt, sowie für weitere Grünalgen beschrieben: **Chlamydomonas reinhardtii** (Moestrup 1978), **Schizomeris leibleinii** (Birbeck et al. 1974) und **Ulothrix zonata** (Sluiman et al. 1980).

Zusammenfassend kann festgehalten werden, daß **Polytoma** bezüglich des Geißelapparates der Interphasezelle als chlamydomonasartiger Typ (Melkonian 1980a) oder als "cruciate type of zoid" (van den Hoek 1981) angesprochen werden kann.

2.2.Preprophase

Während in der frühen Preprophase der Basalkörperkomplex weitgehend dem der Interphase gleicht, werden nach Abschluß der Kernwanderung zum apikalen Pol im Zuge der Einleitung der Mitose auch Veränderungen am Basalkörperkomplex sichtbar. Bei **Polytoma** verschwindet wie schon

früher beschrieben (Gaffal & Schneider 1980b) die gestreifte Verbindung zwischen den flagellentragenden Basalkörpern.

Der Basalkörperkomplex der späten Preprophasezelle besteht aus 2 flagellentragenden und 2 zusätzlichen Basalkörpern, die sich in ihren Längen nicht mehr wesentlich voneinander unterscheiden. Die gegenüber der Interphasezelle vergrößerten Abstände zwischen den flagellentragenden Basalkörpern und die paarweise Anordnung eines verlängerten zusätzlichen und eines flagellentragenden Basalkörpers liefen Hinweise zum Aufteilungsmodus der Basalkörper. Offenbar spaltet sich der Basalkörperkomplex in zwei Paare aus je einem ursprünglich flagellentragenden und einem verlängerten zusätzlichen Basalkörper auf.

Im Gegensatz zu den kleinen Wurzelfasern, die sich offensichtlich aufgelöst haben, bleiben die großen Wurzelfasern in Verbindung mit je einem Basalkörperpaar. Mit ihrem auf kurzer Strecke kernnahen Verlauf in der untersuchten späten Preprophasezelle kündigt sich möglicherweise schon an, daß die Wurzelfasern in Preprophasestadien nach Ablösung der Basalkörper von den Flagellen, – ein Stadium, das in der vorliegenden Untersuchung fehlt, – dem Kern in ganzer Länge anliegen (Gaffal & Schneider 1980b).

2.3.Mitose und frühe Interphase

Während der Mitose und des frühen noch innerhalb der Sporangienhülle ablaufenden Teils der frühen Interphase erfolgt unter anderem die Spaltung des Basalkörperkomplexes in 2 Basalkörperpaare, die Entwicklung flagellentragender Basalkörper aus den ursprünglich zusätzlichen Basalkörpern, die Bildung von je 2 Probasalkörpern und deren Reifung zu den neuen zusätzlichen Basalkörpern sowie der Wiederaufbau des kreuzweise angelegten Wurzelfasersystems.

2.3.1.Das Wurzelfasersystem

Da ein Preprophasestadium nur während des 1. Teilungszyklus existiert, kann an Hand des untersuchten Materials keine Aussage zum Verhalten des Basalkörperkomplexes während des Preprophase-Prophase-Übergangs gemacht werden. Nach der vorliegenden Untersuchung steht jedoch fest, daß während der frühen Prophase des 2. und 3. Teilungszyklus (und auch während späterer Mitosephasen) von den beiden an den Kernpolen liegenden, jetzt eigenständigen Basalkörperkomplexen je eine große Wurzelfaser mit einer Länge von etwa einem Viertel des Zellumfangs an der Peripherie des Zelläquators entlangzieht. Demgegenüber wurden im gleichen Organismus während der Prophase des 2. Teilungszyklus nur kurze Stümpfe (500nm) von Wurzelfasern vorgefunden (Gaffal & Schneider 1980b). Dies

und die Existenz verkürzter Wurzelfaserzüge in einer der vier damals untersuchten Preprophasezellen (1. Teilungszyklus) wurden als Indiz dafür gewertet, daß sich die Wurzelfasern zu Beginn der Mitose vorübergehend verkürzen. Eine voll befriedigende Erklärung für die Diskrepanz zwischen den hier vorgelegten Ergebnissen und den früher erhobenen Befunden (Gaffal & Schneider 1980b) fehlt. Am plausibelsten erscheint die Vermutung, daß die hier verwendete, in Bezug auf den Erhaltungszustand der Mikrotubuli wesentlich verbesserte Präparationsmethode dafür verantwortlich ist.

Auch die genauen Verhältnisse, die beim Preprophase-Prophase-Übergang in Bezug auf die räumlichen Relationen zwischen den Basalkörpern und der Wurzelfaser gegeben sind, können nicht geklärt werden.

Besser zu bestimmen ist demgegenüber das weitere Schicksal der großen Wurzelfasern, die während der Inter- und frühen Preprophase in einer zur Zellängsachse parallel verlaufenden Ebene lagen. Weiterhin von den Basalkörpern ausgehend erreichen sie jetzt als 2 sich berührende und sich umgekehrt spiegelbildlich zueinander verhaltende Bögen auch eine Position in der Zelle, an der in Grünalgen das sogenannte Metaphaseband gefunden wurde (Johnson & Porter 1968; Deason & Darden 1971; Deason & O'Kelley 1979). Die Analyse der Serienschnitte erlaubte bei **Polytoma** eine eindeutige Einordnung der Mikrotubuli als Wurzelfasern und demnach ist ihre Betrachtung als neues, nur während der Mitose auftretendes, eigenständiges Mikrotubulsystem nicht gerechtfertigt.

Anzeichen für die Bildung der zweiten großen Wurzelfaser pro Basalkörperkomplex sind die kurzen Mikrotubulipaare und -gruppen, die schon ab der Prophase in ihrer endgültigen Position über dem proximalen Ende des zweiten Basalkörpers auftreten. Deren Vervollständigung erfolgt vermutlich im gleichen Zeitraum wie der Erwerb der kleinen Wurzelfasern, so daß bis zum Telophasestadium mit 2 getrennten Tochterkernen zahlenmäßig die Interphasesituation bei den Wurzelfasern wiederhergestellt ist. Mit der Vertiefung des Cyto kinesespalts wird auch der basalwärts gerichtete Verlauf wieder eingenommen.

2.3.2. Basalkörper

Sowohl während der späten Preprophase als auch während der Prophase verlaufen cytoplasmatische Mikrotubuli auf die basalkörperhaltige Region der Zelle zu. Vermutlich wird zumindest ein Teil dieser Mikrotubuli beim Übergang von der einen zur anderen Phase übernommen, und an den Spalthälften der Basalkörperkomplexe, die

sich in diesem Zeitraum voneinander entfernen, sitzen immer Mikrotubuli an. Da eine Beteiligung von Mikrotubuli an der Basalkörperwanderung nach Hemmstoffexperimenten (Brinkley et al. 1967) und auf Grund von Strukturbeobachtungen (Rattner & Berns 1976) vermutet wird, könnten die basalkörperassoziierten Mikrotubuli auch bei **Polytoma** diese Aufgabe erfüllen.

Nach der Halbierung des Basalkörperkomplexes folgen mit erstaunlicher Regelmäßigkeit ablaufende Ereignisse, die wieder zu 4 Basalkörpern pro Komplex führen. Die ersten Anzeichen der Basalkörperneubildung sind kurze Wagenradstrukturen senkrecht zum proximalen Ende eines reifen Basalkörpers, um die 9 Einzelmikrotubuli entstehen. In Anlehnung an Gall (1961), der Gebilde, die gegenüber den reifen Centriolen kürzer sind und etwas geringeren Durchmesser aufweisen, als Procentriolen bezeichnet, wurden die entsprechenden Strukturen von **Polytoma** Probasalkörper genannt. Obwohl die Entstehung dieser Vorläuferstrukturen im rechten Winkel zu reifen Centriolen ("orthogonal budding") sehr häufig beschrieben wird, hält Wheatley (1982) eine Beteiligung der reifen Centriolen an der Neubildung für unwahrscheinlich, da die sogenannte "de novo" Bildung von Centriolen in Abwesenheit jeglicher centriolenartiger Strukturen möglich ist. Als den Organisator der Centriolen betrachten Stubblefield & Brinkley (1967) die Wagenradstruktur, die auch bei **Polytoma** zuerst erscheint, und für deren Herstellung bereits ein Modell auf molekularer Basis existiert (Satir & Satir 1964). Die Wagenradstruktur ist in amorphes Material eingebettet, das mit der "amorphous disk" verglichen werden kann, die Cavalier-Smith (1974) während der Basalkörperentwicklung bei **Chlamydomonas reinhardtii** findet.

Die konstante Lage der Probasalkörper bei **Polytoma**:

- a) im rechten Winkel zu einem reifen Basalkörper
- b) an der dem Verlauf der großen Wurzelfaser entgegengesetzten Seite des reifen Basalkörpers

läßt zumindest einen orientierenden Einfluß des reifen Basalkörpers möglich erscheinen. Eine Folgerung, die auch Cavalier-Smith (1974) aus seinen Beobachtungen ableitet.

Der Beginn der Basalkörperneubildung in Pro- und Metaphase bei **Polytoma** deckt sich mit Angaben von Johnson & Porter (1968) für **Chlamydomonas reinhardtii** (Mitose) und bestätigt die Tendenz (Wheatley, 1982), daß in einzelligen Organismen Basalkörperbildung während der Mitose einsetzt.

Bis zur Cytokinese haben die Probasalkörper eine Länge erreicht, die sogar die der reifen Basalkörper überschreiten kann. Dabei kann nicht unterschieden werden, ob der Zuwachs an dem dem Basalkörper

zu- oder abgewandten Ende oder bidirektional erfolgt. Erst in den verlängerten Probasalkörpern wird mit dem Aufbau der beiden weiteren Tiplett-mikrotubuli (B und C) begonnen. Die noch bestehende Nachbarschaft eines Probasalkörperendes zu dem reifen Basalkörper erlaubt die Feststellung, daß die Komplettierung vom abgewandten Ende her erfolgt, bis auf ganzer Länge Mikrotubulitriplets vorhanden sind. Nach dieser Beobachtung erscheint die Annahme vernünftig, daß die anfängliche Verlängerung der Probasalkörper an dem dem reifen Basalkörper zugewandten Ende stattfindet, und daß sich das entfernte Ende mit der Wagenradstruktur in das Cytoplasma schiebt. An diesem Ende beginnt dann die Komplettierung und alle 3 Mikrotubuli der Basalkörper weisen die gleiche Entstehungsrichtung auf. Diese Interpretation der Daten zur Basalkörperbildung hat zudem den Vorteil, daß die A- und B-Mikrotubuli des Basalkörpers identisch polarisierte Ansatzstellen für die im nächsten Zellzyklus entstehenden Mikrotubuli der Flagellen darstellen. Bei **Polytoma** wird während der Komplettierung ein Stadium mit peripheren Mikrotubulidubletts übersprungen, während diese z.B. für **Chlamydomonas reinhardtii** (Johnson & Porter 1968) und für **Paramecium aurelia** (Dippell 1968) beschrieben werden. Die Variabilität dieses Schritts der Basalkörperbildung wird damit deutlich. Betrachtet man die komplettierten Probasalkörper (Länge teilweise über 300nm) als Vorläufer der zusätzlichen Basalkörper (Länge:90-120nm), so muß eine Verkürzung der Strukturen beim Übergang der jungen Tochterzellen zu frei beweglichen Interphasezellen eingetreten sein. Der Vorgang, daß auf dem Weg der Basalkörperbildung bereits angelegte Strukturen wieder abgebaut werden, ist möglicherweise weiter verbreitet. Duckett & Carothers (1982) berichten von Wagenradstrukturen in Farnen, die weitaus länger sind, als die durch ihre Initiative entstehenden reifen Centriolen.

Anzeichen der Flagellenbildung sind schon ab der Prophase zu erkennen. Mit dem Auswachsen der 9+2 Struktur von einem Basalkörper unterhalb der Plasmamembran folgt **Polytoma** dem zweiten der von Schuster (1965) zusammengestellten Bildungsmuster für Flagellen. Bei **Polytoma** ist die Membran wie bei der Amöbe **Tetramitus** (Outka & Kluss 1967) von dem mikrotubulihaltigen Teil des Flagellenstumpfes apikal weiter entfernt als seitlich. Demgegenüber liegt die Membran der sich entwickelnden 9+2 Struktur von **Chlamydomonas reinhardtii** (Johnson & Porter 1968) überall im gleichen Abstand an.

Die meisten Flagellenquerschnitte zeigten das übliche 9+2 Muster der Mikrotubuli und nur gelegentlich ein Zwillingarrangement. Wenn auch bei **Polytoma** die Zuordnung der Zwillingstrukturen zu Zygoten nicht gelang, so deutet das Auftreten von vergleichbaren Strukturen in Zygotenpräpa-

rationen von *Chlamydomonas moewusii* (Brown et al. 1968), die Möglichkeit an, daß die Flagellen der Gameten im Zuge der Zygotenbildung verschmelzen können.

2.4. RNA im Basalkörperkomplex ?

Im Zuge der konventionellen elektronenmikroskopischen Analyse der Basalkörper bei *Polytoma* zog auch die Frage nach der An- oder Abwesenheit von Nukleinsäuren im Basalkörperkomplex Interesse auf sich. Der Einsatz einer cytochemischen Methode (Bernhard 1969) auf ultrastrukturellem Niveau bot sich an, da von einer solchen Technik das größte Auflösungsvermögen erwartet werden darf. Da die Ergebnisse neuerer Arbeiten (z.B. Rieder 1979; Pepper & Brinkley 1981) den Verdacht verstärken, daß RNA mit Basalkörpern assoziiert sein könnte, beschränkte sich der Ansatz auf die Suche nach RNA. Obwohl die Zuverlässigkeit der Extraktionsmethode außer Zweifel steht, gelang es nicht, Unterschiede im Basalkörperkomplex zwischen unbehandelten und Ribonuklease behandelten Schnitten zu entdecken. Dieser Befund läßt mehrere Interpretationen zu:

1. Der Basalkörperkomplex von *Polytoma* enthält keine RNA.
2. Der Basalkörperkomplex von *Polytoma* enthält RNA in einer Menge unterhalb der Nachweisgrenze der Methode.
3. Die angewandte Methode arbeitet (Bernhard 1969) unzuverlässig, wofür es von anderer Seite Hinweise gibt (Pearson & Davies 1982).

3. Cytoplasmatische Mikrotubuli

In diesem Abschnitt soll u.a. versucht werden, zwischen den in verschiedenen Entwicklungsstadien von *Polytoma* beobachteten Mikrotubulsystemen und den jeweils in der Zelle ablaufenden Ereignissen eine Beziehung herzustellen. Dabei kommt der Zusammenhang zwischen den zentralen Mikrotubuli der Preprophasezelle und der Wanderung des Zellkerns zum apikalen Pol zur Sprache. Es schließt sich die Erläuterung der möglichen Abhängigkeit der Cytokinese von Mikrotubuli an, und corticale Mikrotubuli in den Tochterzellen werden in Beziehung zur Zellform gesetzt. Weiterhin soll die Dynamik in der Abfolge der Mikrotubulsysteme verdeutlicht werden.

3.1. Interphase, Preprophase und frühes Zygotenstadium

Mikrotubuli, die während der Inter- und Preprophase in *Polytoma* auftreten, können entweder einem corticalen oder einem zentralen System zugeordnet werden. Die Enden der corticalen Mikrotubuli im apikalen Zellpol liegen zum einen seitlich von den Basalkörpern, zum anderen,

wie besonders in der späten Preprophase deutlich wird, in Nachbarschaft zu den Wurzelfasern. In Einzellern dienen wurzelfaserartige Strukturen oder das mit ihnen vergesellschaftete Material üblicherweise als Ansatzstellen für Mikrotubuli (Falk 1967; Reichele 1969; Bouk & Brown 1973; Brown et al. 1976; Schnepf et al. 1977; Katz & McLean 1979; Stearns & Brown 1981). Da sowohl für Basalkörper (Heideman et al. 1977) als auch für Wurzelfasern (Stearns & Brown 1981) die Kapazität, als MTOC zu fungieren bewiesen wurden, kann eine Entehungsweise der corticalen Mikrotubuli vom Basalkörperkomplex ausgehend zur Zellbasis hin angenommen werden. Aus dem Vergleich der Abb.3 mit der Abb.36 geht hervor, daß sich das corticale Mikrotubulsystem in der Zeit zwischen dem Abschluß der letzten Cytokinese und dem Erreichen eines mehr oder weniger fortgeschrittenen Interphasestadiums stark ändert. Die schrittweise Reduzierung des corticalen Mikrotubulsystems ist offenkundig. Parallel dazu erfolgt

1. die Bildung einer neuen Zellwand und
2. die Wiedererlangung der Eiform der Zelle.

Daraus läßt sich ableiten, daß infolge des Besitzes einer Zellwand, die zweifelsohne einen Beitrag zur Stabilisierung der Zellform liefert, andere formgebende Skelettkomponenten, z.B. die corticalen Mikrotubuli teilweise entbehrlich werden. Durch die Beziehung der corticalen Mikrotubuli zum Basalkörperkomplex könnten sie auch zu dessen Verankerung in der Zelle beitragen.

Mikrotubuli in der späten Preprophasezelle, die auf Grund ihres vermuteten Ursprungs aus der Gegend der großen Wurzelfaser auch zu den corticalen Mikrotubuli gezählt wurden und teilweise auf den Kern hin orientiert sind, wurden aber offensichtlich neu gebildet. Sie könnten im Zuge ihrer Polymerisation Druck auf die Kernmembran entfalten und so für die in der späten Preprophase beobachtete Verlagerung des Zellkerns aus seiner medianen Position verantwortlich sein. Es gibt Hinweise darauf, daß entstehende Mikrotubuli Druck ausüben können (Bajer et al. 1982).

Als organisierendes Zentrum für einen Teil der zentralen Mikrotubuli dient vermutlich das Material unterhalb der Basalkörper, das in der Interphasezelle eingeschränkt und in der frühen Preprophasezelle vollständig geschichtet ist, und das in seiner Gesamtheit eine Scheibe bildet. In der späten Preprophasezelle kann keine definierte Struktur als Mikrotubuliansatzstelle ausgemacht werden. Vielmehr liegen die apikalen Enden der zentralen Mikrotubuli in amorpher Substanz, in die auch die Basalkörper eingebettet sind. Diese Wandlung bringt möglicherweise zum Ausdruck, daß die geschichtete Scheibe in der späten Prepro-

phase nach Abschluß der Kernwanderung nicht mehr als Ansatzstelle für Mikrotubuli benötigt wird und dissoziiert. Eine Struktur, die mit der geschichteten Scheibe der frühen Preprophazellen von **Polytoma** recht gut vergleichbar ist, besitzt der Choanoflagellat **Codsiga** (Hibberd 1975). Hier umgibt ein geschlossener, geschichteter Zylinder den Basalkörper konzentrisch. In der äußersten Lage des Zylinders inserieren ebenso Mikrotubuli wie an einem geschichteten mit dem Kern assoziierten Körper, den Roos (1975) in **Polyspondylium violaceum** findet.

In Interphasezellen von **Polytoma** wurden unterhalb der geschichteten Scheibe Anhäufungen amorphen Materials festgestellt, unterhalb von denen wiederum jeweils ein Tubulus beginnt. Es muß offen bleiben, ob diese Ansammlungen Mikrotubuli initiieren, oder ob sich Mikrotubuli vom basalkörperassoziierten MTOC abgelöst haben, um dort wieder Platz für neu entstehende Mikrotubuli zu machen. Ein derartiger Mechanismus wird von Vorobjew & Chentsov (1983) vorgeschlagen. Beim Ablösevorgang könnte Material des MTOC's mitgenommen werden.

Im Bereich des Ursprungs der cytoplasmatischen Mikrotubuli finden sich auch noch größere Konglomerate aus amorphem Material, die in ihrem Aussehen den von Melkonian (1980b) als "special granules" bezeichneten Elementen aus den Paarungsstrukturen von **Ulva lactuca** gleichkommen. Die Konglomerate können weiterhin mit den "dense granules" verglichen werden, die Chang et al. (1979) in Epithelzellen zur Zeit der Cilio-genese finden und als kondensiertes Tubulin interpretieren.

Bei der Suche nach der Bedeutung der zentralen Mikrotubuli der Interphasezelle stößt man auf 2 Möglichkeiten. Zum einen könnten diese Mikrotubuli, wie für **Acetabularia**, **Micrasterias** und **Uromyces** (Woodcock 1971; Kiermayer 1968a; Herr & Heath 1982) angenommen wird, den Zellkern in einer bestimmten Position im Cytoplasma verankern. Zum anderen stellt dieser Mikrotubuliverband nur die Vorstufe für die Mikrotubuli dar, die, wie bei der Behandlung des folgenden Entwicklungsstadium ausgeführt wird, eine Rolle bei der Wanderung des Zellkerns spielen.

An die Betrachtung der Interphase kann die Erörterung der Verhältnisse in der Zygote angeschlossen werden, da die fusionierenden Gameten nicht von jungen Interphasezellen zu unterscheiden sind. Die Vereinigung der Gameten beginnt mit einem Zellpol-Zellpol-Kontakt und führt über ein taschenmesserartiges Zusammenklappen der langgestreckten Zellen zu einer von apikal nach basal fortschreitenden Verschmelzung (Gaffal & Schneider 1978). Die Kenntnis dieses Vorgangs ermöglicht eine einfache Herleitung des Mikrotubuliinventars der analysierten jungen Zygote aus der längsseitigen Paarung zweier Mikrotubulisysteme

vom Interphasestyp. Da nur eine Zygote untersucht wurde, läßt sich die Signifikanz der Konzentration der Mikrotubuli in der Region zwischen den beiden Kernen bei **Polytoma** zwar nicht abschätzen, jedoch ist es bemerkenswert, daß auch in Zygoten einer anderen Alge Mikrotubuli in einer ähnlichen Position auftreten (Hoffman 1974). Die Mikrotubuli könnten eine vorzeitige Verschmelzung der Kerne verhindern.

Zur Einleitung der Mitose wandert bei **Polytoma** in der sogenannten Preprophase der Zellkern zu dem Zellpol der den Basalkörperkomplex enthält (Gaffal & Schneider 1980b). **Polytoma** ordnet sich damit in eine Reihe von Phytoflagellaten mit dem gleichen Merkmal ein (**Tetraspora**: Pickett-Heaps 1973c; **Chlamydomonas moewusii**: Triemer & Brown 1974; **Chroomonas salina**: Oakley & Dodge 1976; **Dunaliella bioculata**: Marano 1976; **Phacus longicaudis** und **Euglena gracilis**: Pickett-Heaps & Weik 1977). Während der Wanderung des Zellkerns lassen sich bei **Polytoma** folgende Strukturdetails registrieren:

1. Zumindest anfangs liegen cytoplasmatische Mikrotubuli parallel zur Bewegungsrichtung.
2. Der Zellkern besitzt in Bewegungsrichtung einen kielartigen Fortsatz.

Diese Charakteristika finden sich mehr oder weniger deutlich in einer Vielzahl von Zelltypen (Literaturübersicht bei Meindel 1983) im Zuge einer Verlagerung des Zellkerns. Mikrotubuli und die kielartig oder spitz ausgezogene Kernhülle sind so auffällig gekoppelt, daß es Galatis et al. (1983a) sogar möglich scheint von einer Deformation des Zellkerns auf die Existenz eines MTOC's in der Nachbarschaft zu schließen, an dem die morphogenetisch wirkenden Mikrotubuli ansetzen.

In der vorliegenden Untersuchung wurden zur Aufklärung der Rolle der Mikrotubuli bei der Kernbewegung keine Agenzien eingesetzt, die Mikrotubuli zerstören (Kiermayer 1968b; Kiermayer & Hepler 1970; Brawley & Quatrano 1979; Schmiedel & Schnepf 1979; Schnepf & Heinzmann 1980; Schatten & Schatten 1981; Vogelmann et al 1981; Meindel & Kiermayer 1982) oder stabilisieren (Schatten et al. 1982). Frühe Befunde bei der Untersuchung der Mitose (Barber & Callan 1943), und die Elektronenmikroskopie an Axonemen von Heliozoen haben bestätigt (Tiiney 1968), daß Kältebehandlung Mikrotubuli gleichermaßen zerstören kann. In der Hoffnung, etwas über die Bedeutung der Mikrotubuli bei der Kernwanderung zu erfahren, wurden die Effekte einer Kältebehandlung auf **Polytoma** untersucht. Wenngleich

der lichtmikroskopisch ermittelte Anstieg der Preprophasestadien und der Rückgang der Postcytokinesestadien in der Kältebehandelten Kultur für eine Blockierung des Mitosegeschehens zum Zeitpunkt der Preprophase sprechen, lassen sich die Ergebnisse auf ultrastrukturellem Niveau nicht so eindeutig interpretieren. Man findet nach Kältebehandlung sowohl weiterhin Mikrotubuli, was nicht ungewöhnlich ist (z.B. Burch & Marchant 1982; Pannese et al 1982), als auch die charakteristisch verformte Kernoberfläche. Die Kernwanderung ist also in der Kälte zumindest im Ansatz möglich. Da sowohl in einer der drei normal angezogenen Zellen als auch in den beiden Kältebehandelten Zellen Mikrotubuli aus dem zentralen System existieren, die seitlich in das Cytoplasma führen, wird dieses Phänomen nicht allein durch Kältebehandlung hervorgerufen. Man muß vielmehr davon ausgehen, daß es sich um eine stadienspezifische Vermehrung des Anteils dieser seitlich ausstrahlenden Mikrotubuli handelt, die dann in der späten Preprophase sehr stark vertreten sind. Möglicherweise hat der nun apikal verlagerte Kern die anfangs zentral gelegenen Mikrotubuli zur Seite hin verdrängt, wie es auch mit anderen Bestandteilen des Cytoplasmas geschieht (Gaffal & Schneider 1980b).

Die Mechanismen, die den intrazellulären Transport von Zellbestandteilen bewerkstelligen, gelten bislang als ungeklärt. Jedoch gewinnt die Ansicht an Bedeutung, daß Mikrotubuli bei den Transportprozessen beteiligt sind. Befunde wie die Anwesenheit von Mikrotubuli in Nachbarschaft zum wandernden Vorkern und ihr Fehlen beim stationären Kern während der Konjugation von **Paramecium** (Jurand 1976) sprechen für die Gültigkeit dieser Annahme. Mikrotubuli könnten als sogenannte Gleitschienen, fungieren entlang derer die Wanderung abläuft. Die Bewegung selbst muß dann von anderen Elementen bewerkstelligt werden. Es gibt Hinweise auf eine Rolle von Membranen bei zellulären Bewegungsvorgängen (Bloodgood 1977; Rickards 1975; LaFountain 1982; 1983; Myles & Hepler 1982). Die Probleme in diesem Zusammenhang werden klar, wenn man folgende Befunde zur Veränderung der Kernform und ihre Beziehung zu Mikrotubuli vergleicht. Nach Einwirkung der die Mikrotubuli zerstörenden Substanz Colchicin auf Spermien von **Marsilea** bildet sich statt des spiralförmigen Kerns ein unregelmäßiger Körper. D.h. die an der Gestaltänderung beteiligten Bewegungen laufen nach wie vor ab, sie führen aber in Folge der fehlenden Mikrotubuli nicht zum gewünschten Ergebnis (Myles & Hepler 1982). Im Gegensatz dazu stehen die Befunde am Ciliaten **Blepharisma** (Jenkins 1977). Der Makronukleus in diesem Organismus, dessen

Verlängerung von Mikrotubuli begleitet wird, behält bei colchicin=bedingter Abwesenheit von Mikrotubuli seine sphärische Ausgangsform. Hier findet ohne Mikrotubuli nicht einmal eine unregelmäßige Bewegung statt. Einen weiteren Ansatz zur Erklärung der Bewegungsphänomene liefert die Anwesenheit von Mikrofilamenten (Aktin), die im Cytoplasma von Phytoflagellaten elektronenmikroskopisch (Triemer & Brown 1975) nachgewiesen wurden. Die als starr geltenden Mikrotubuli (Bereiter-Hahn 1978) stellen auch hier ein widerlagerartiges Gerüst, das über Mikrofilamente mit dem zu bewegendem Element Verbindung aufnimmt. Die Aktivität der Mikrofilamente ist dann für die Bewegung verantwortlich. Wenn elektronenmikroskopisch die zu erwartenden Mikrofilamente nicht beobachtet werden, ist das entweder auf die Labilität dieser Strukturen gegenüber dem als Fixierungsmittel gebräuchlichen Osmiumtetroxid zurückzuführen (Maupin-Szamer & Pollard 1978), oder sie sind nur in geringer Zahl vorhanden und entsprechend schwer aufzufinden.

3.2.Cytokinese

Auf Grund der möglichen Funktion cytoplasmatischer Mikrotubuli bei der während des Preprophase-Prophase-Übergangs erfolgenden Basalkörperwanderung sowie der Beziehung cytoplasmatischer Mikrotubuli der Prophasezelle zur Mitose ist es vorteilhafter, diese Systeme in den entsprechenden Abschnitten zu behandeln und hier mit der Cytokinese fortzufahren. Wenn die V-förmigen Invaginationen der Plasmamembran, die von der Prophase an die Wurzelfasern begleiten, als erste Anzeichen des Cytokinespalts interpretiert werden, dann überlagern sich Mitose und Cytokinese auf ganzer Länge. Mit der Preprophase (Deason et al. 1979), der Prophase (Triemer & Brown 1974), der Prometaphase (Pickett-Heaps 1972b) und der Metaphase (Deason & O'Kelley 1979) beginnt auch bei anderen Algen die Cytokinese. Erst in Zellen, die die Anaphase durchlaufen, wurden bei **Polytoma** Mikrotubuli parallel zur Teilungsebene festgestellt. Vermutlich ist ihre Lage durch die Wurzelfaserzüge bestimmt, da sie auf diese hin orientiert sind. Wurzelfaserassoziierte Mikrotubuli wurden bei **Polytoma** bereits während der Interphase beobachtet. Dieses Organisationsprinzip für Mikrotubuli wird also innerhalb des Lebenszyklus eines Organismus mehrfach wenngleich in unterschiedlichem Maße angewendet. Von der Ana- zur Telophase fortschreitend breitet sich die von Mikrotubuli durchsetzte Region unterhalb der Wurzelfaserzüge zunehmend aus. Die Lage der Mikrotubuli innerhalb der Teilungsebene weist sie als Angehörige eines typischen Phycoplasten aus.

Gleichzeitig vertieft sich der Cytokinespalt, wobei in der Endphase der Durchschnürung auch auf der der Wurfelfaser gegenüberliegenden Zelloberfläche eine vergleichsweise geringe Einsenkung festzustellen ist. Sowohl derartige bilaterale (Floyd 1978) als auch unilaterale (Deason et al. 1979) Teilungen kommen bei Algen vor. Läßt man solche Details außer Acht und betrachtet nur die Anwesenheit von Mikrotubuli in Nachbarschaft zum Teilungsspalt, so darf **Polytoma** bezüglich dieses Merkmals in eine Gruppe von Grünalgen eingereiht werden, die von folgenden Autoren beschrieben wurden: Atkinson et al. (1974); Deason & Darden (1971); Deason et al. (1979); Deason & O'Kelley (1979); Domozych et al. (1981); Floyd (1978); Johnson & Porter (1968); Lokhorst & Star (1983); Marchant (1974a,b; 1977); Molnar et al. (1975); Nilshammer (1972); Pickett-Heaps (1970b,c; 1972b; 1973a,b,c); Stewart et al. (1974); Triemer & Brown (1974); Wilson et al. (1973).

Ab der Prophase verlaufen bei **Polytoma** die Wurfelfaserzüge in einer Zone unterhalb der Zelloberfläche schräg zu einer gedachten Linie zwischen den Zentren der beiden basalkörperhaltigen Regionen der Zelle. Diese frühe Anordnung der Wurfelfaserzüge in einem Bereich, in dem sich der Cytokinespalt entwickelt zum einen, und die räumliche Abhängigkeit der Phycoplastmikrotubuli von der Wurfelfaser zum zweiten lassen den Schluß zu, daß die Wurfelfaserzüge die Lage des Teilungspaltes bestimmen. Da die Durchschnürung bilateral erfolgt, Mikrotubuli aber nur auf einer Seite vorhanden sind, kann von den Mikrotubuli allein nicht die treibende Kraft für die Durchschnürung ausgehen. Denkbar ist aber eine Beteiligung der Mikrotubuli an der Modifizierung des entsprechenden Plasmabereichs. So sollen Mikrotubuli z.B. in der Lage sein, das Cytoplasma, das sie durchziehen, zu stabilisieren (Porter 1966).

Schwierigkeiten macht die Erklärung der Bedeutung der senkrecht zur Längsachse verlaufenden Mikrotubuli während der späten Cytokinese. Ihre Betrachtung als Reste des Spindelapparates ist auf Grund ihrer basisnahen Lage in der Zelle unwahrscheinlich. Zu einem eigenständigen Mikrotubulisytem in dieser Position existieren anderswo keine Parallelen. Bezüglich ihrer Funktion fehlt jede Vorstellung.

3.3. Junge Interphasezellen innerhalb des Sporangiums

Im Zuge der Cytokinese wurden vornehmlich unterhalb des den Teilungsspalt bekleidenden Abschnitts der Plasmamembran Mikrotubuli angelegt. In ganz jungen Tochterzellen liegen unterhalb der ganzen Zelloberfläche Mikrotubuli, die parallel zur Zelllängsachse verlaufen,

und deren aufsummierte Gesamtlänge sich während der Wandbildung nicht ändert. Bei der Suche nach Vorläufern für diese corticalen Mikrotubuli muß man bis in Ana- und Telophasezellen zurückgehen, deren basalkörperhaltige Region bereits als Ansatzstelle für wenige, strahlenförmig in das Cytoplasma führende Mikrotubuli diente. Während der Cytokinese verlängern sich diese Mikrotubuli, und möglicherweise unter Eingliederung der Phycoplastmikrotubuli entsteht das corticale System der Tochterzellen.

Eine Antwort auf die Frage nach der Bedeutung der corticalen Mikrotubuli erhält man beim Vergleich der Zellformen zwischen z.B. Zellen während der Telophase und Tochterzellen. Erstere sind, besonders wenn schon Teilungsschritte vorausgegangen sind, recht unregelmäßig gestaltet. Demgegenüber bildet sich in Tochterzellen schon vor der Wandbildung mit dem Auftreten corticaler Mikrotubuli die eiförmige Gestalt aus, die auch während der Interphase beibehalten wird. Die Interpretation der peripheren Mikrotubuli als Cytoskelett zur Herstellung und Erhaltung einer bestimmten Zellform fällt umso leichter, als wandlose Zelltypen oft peripher liegende Mikrotubuli besitzen (Bouk & Brown 1973; Melkonian 1975; Melkonian et al. 1980; Schnepf et al. 1977; Floyd 1978; Birchem & Kochert 1979; Marchant 1979; Stearns & Brown 1981). Zerstört man durch Colchicin oder Druck (Brown & Bouk 1973) oder durch Kälte (Melkonian et al. 1980) die peripheren Mikrotubuli, so resultiert daraus eine Veränderung der Zellform.

Bei der Ausgestaltung der Papille erfüllen vermutlich die dort in einer Tochterzelle mit Wand angetroffenen Mikrotubuli eine morphogenetische Funktion. Eine analoge Interpretation geben Domozych et al. (1981) für vergleichbare Mikrotubuli bei *Carteria*.

Im Verlauf der Mitose existieren keine Mikrotubuli, von denen sich das zentrale System der Tochterzellen ableiten ließe. Bei einer analysierten Zelle im Endstadium der Cytokinese fanden sich wieder zentrale Mikrotubuli in einem Ausmaß, das zumindest die wandlose der beiden analysierten Tochterzellen übertraf. Dies kann als Ausdruck individueller Schwankungen in der Mikrotubulimasse erklärt werden. Die auf Grund ihrer Zellwand sicher als weiter in der Entwicklung fortgeschrittene Tochterzelle besitzt deutlich mehr zentrale Mikrotubuli als die noch wandlose Zelle. Wie schon früher erwähnt, setzt sich dieser Anstieg fort und ermöglicht die Überleitung zur Interphasezelle, in der das zentrale Mikrotubulisystem gegenüber dem corticalen Mikrotubulisystem dominiert.

Wenngleich vom Zelltyp her nur wenig Parallelität besteht, so war doch die Analyse des Mikrotubuliinventars während des Zellzyklus

von **Sphagnum**-Blättern (Schnepf 1973) richtungsweisend für die hier durchgeführte Untersuchung an **Polytoma**. Die zusammenfassende Betrachtung führt bei **Polytoma** wie auch bei **Sphagnum** zu dem Eindruck, daß die Mikrotubuli hauptsächlich durch Polymerisations- und Depolymerisationsvorgänge umgeordnet werden und weniger durch Verlagerung intakter Mikrotubuli. Dieser Eindruck entsteht bei **Polytoma** aus der Abfolge mikrotubuliärmer und mikrotubulireicher Stadien ebenso wie aus der Drehung der Hauptverlaufsrichtung der Mikrotubuli in aufeinanderfolgenden Phasen. Die Kapazität von Centrosomen aus Zellen des chinesischen Hamsters als MTOC zu dienen, variiert mit den Phasen des Zellzyklus (Kuriyama & Borisy 1981). Bei **Polytoma** fungieren meist Bestandteile des Basalkörperkomplexes oder den Basalkörpern unterlagertes Material als MTOC. Es erscheint attraktiv, die Abfolge der Mikrotubulsysteme auf Veränderungen in der Art und der Kapazität der MTOC's zurückzuführen. Eine weitere Klärung der Fragen nach der zeitlichen und räumlichen Organisation von Mikrotubulsystemen darf man von der molekularbiologischen Charakterisierung der MTOC's erwarten, die allerdings erst in Angriff genommen wurde (Stearns & Brown 1978). Ebenso bedeutungsvoll für die Umorganisation von Mikrotubulsystemen könnten Fluktuationen in der zur Verfügung stehenden Tubulinmenge sein. Tatsächlich steigt in **Chlamydomonas** die Tubulin kodierende messenger-RNA in Zuge der Mitose um den Faktor 10 an (Ares & Howell 1982)!

4. Mitose

In der frühen Prophasezelle von **Polytoma** besetzen die Basalkörper die Kernpole. Von ihnen ausgehend führen Mikrotubuli strahlenförmig in das Cytoplasma. Diese Situation erinnert an die sog. Astern (von der pericentriolären Region ausstrahlende Mikrotubuli) tierischer Zellen (Bajer & Mole-Bajer 1981), die bis zur Telophase erhalten bleiben. Da das Mikrotubulsystem bei **Polytoma** aber in der späten Prophasezelle weitgehend verschwunden ist, liegt der Vergleich mit Mikrotubuli pflanzlicher Zellen näher, die während der Prophase in Kernnähe angetroffen werden ("clear zone" nach Inoue & Bajer 1961). Mikrotubuli, die denen von **Polytoma** entsprechen, finden sich auch in den Prophasezellen anderer Algen (Deason et al. 1979; Floyd 1978; Molnar et al. 1975; Pickett-Heaps 1973b; Stewart et al. 1974).

In den erfaßten Prophasezellen von **Polytoma** weisen die stumpfen Enden der Spindelform annehmenden Kerne auf die Basalkörper. Da diese Verformung der Kernpole von Mikrotubuli begleitet wird, sind durchaus Parallelen zur Situation am Beginn der Kernwanderung (Pre-

prophase) erkennbar. Es ist möglich, daß cytoplasmatische Mikrotubuli bis zu ihrem Abbau in der späten Prophase auch an der Kernstreckung beteiligt sind.

Die Betrachtung des cytoplasmatischen Mikrotubulininventars in frühen Prophasezellen offenbart ein Phänomen, das auch nach Behandlung mit einer Substanz zu beobachten ist, die Mikrotubuli stabilisiert (Herth 1983): Mikrotubuli strahlen in das Basalkörperlumen ein. Im Verlauf der frühen Prophase erhält die Kernhülle seitlich neben den Basalkörpern eine Öffnung, in der auch Fortsätze der Kernmembran liegen können (vgl. Pickett-Heaps 1973b; Powell 1980), und durch die wenig außerhalb beginnende Mikrotubuli einstrahlen. Weitgehend unklar bleibt die Bedeutung einer Modifikation, die an der Kernhülle früher Prophasezellen unterhalb der Basalkörper vorgenommen wird. Interessant ist jedenfalls, daß im modifizierten Bereich bei **Polytoma** die sog. polaren Körper der inneren Membran der Kernhülle anliegen. In einem Stadium mit höchstwahrscheinlich intakter Kernhülle setzen an diesen Körpern die ersten intranukleären Mikrotubuli an. Diese erscheinen somit unterhalb der Basalkörper, und es ist anzunehmen, daß Basalkörper für diese erste Phase der Spindelbildung wichtig sind. Ab der späten Prophase sind die Basalkörper etwas zur Äquatorialebene des Kerns hin verschoben. **Dunaliella bioculata** (Marano 1976) besitzt die erwähnte Differenzierung der Kernhülle ebenso wie **Pediastrum boryanum** (Marchant 1974b Plate 4B), ohne daß im letztgenannten Fall darauf hingewiesen wird.

In den 2 untersuchten frühen Prophasekernen liegen an beiden Polen unterschiedlich große intranukleäre Mikrotubulipopulationen vor. Folgt man der Argumentation, daß die Basalkörper eine Aufgabe bei der Spindelbildung erfüllen, so läßt sich auch dieser Befund deuten. Wenn die eine Spalthälfte des Basalkörperkomplexes ihre entgeltige Position an der Kernmembran früher einnimmt als die andere, die einen weiteren Weg bis zu ihrem Pol zurücklegen muß, dann sind die Voraussetzungen für die Spindelbildung an beiden Kernpolen zu unterschiedlichen Zeitpunkten gegeben. Wie die Analysen zeigten, kann das an der morphologischen Asymmetrie erkennbare Nachhinken eines Kernpols oder einer Spindelhälfte (späte Prophase) bis zur Metaphase wieder kompensiert werden oder bis zur späten Anaphase erhalten bleiben.

Polseitige Öffnungen oder Fenster (Johnson & Porter 1968) sind bei Algen häufig während der Mitose im Kern anzutreffen. Bedenkt man die in der Einleitung unter (3.3) aufgezeigten Variationen der Kernhülle, so sollte diesem Strukturdetail nur folgende Funktion zugemessen werden:

Vermutlich erlauben die polseitigen Fenster die Passage von Material (Tubulin), das ursprünglich an den Kernpolen in Form der cytoplasmatischen Mikrotubuli zusammengezogen wurde und jetzt in den Spindelapparat eingeht. Auch Inoue & Bajer (1961) deuten die Bestandteile der "clear zone" als Vorstufen der Mitosespindel. Das Auftreten von intranukleären Mikrotubuli bei **Polytoma** noch vor der Entstehung der polseitigen Fenster schließt deren Funktion bei der Materialpassage nicht aus, da es Organismen gibt, deren Mitose unter vollkommenem Erhalt der Kernhülle abläuft (z.B. King & Hyams 1982). Somit müssen entweder Mechanismen existieren, die den Eintritt von Tubulin in den Kernraum gestatten, oder im Kern ist ständig eine bestimmte Tubulinmenge anwesend, die für den Aufbau der ersten intranukleären Mikrotubuli verantwortlich ist. Extranukleäre Basalkörper, polseitige Fenster und intranukleäre MTOCs finden sich während der Prophase abgesehen von der untersuchten Alge und den ihr nahestehenden Gattungen **Chlamydomonas** (Triemer & Brown 1974) und **Dunaliella** (Marano 1976) auch außerhalb der Algen z.B. bei dem Pilz **Catenaria allomyces** (Sykes & Porter 1981).

Die relativ geordnete Entstehung von Spindelmikrotubuli im Bereich der polseitigen Fenster, und ihre Verlängerung in Richtung auf den Kernäquator könnten die Ansammlung eines Teils des dichten Kernmaterials in der Metaphaseplatte mitbewirken. Die dabei zum Tragen kommende Eigenschaft von Mikrotubuli, durch ihre Verlängerung Druck zu erzeugen (Bajer et al. 1982), wurden schon früher erwogen. Deutlich wird der Zusammenhang zwischen Mikrotubuli und Metakinese, wenn man beachtet, daß in der bezüglich der Spindelgenese nachhinkenden Hälfte des späten Prophasekerns auch noch mehr dichtes Kernmaterial in kompakter Form außerhalb der Äquatorialplatte vorliegt, als in der bezüglich der Spindelbildung schon fortgeschrittenen Kernhälfte. Das von anderer Seite (Rickards 1975) vorgeschlagene Zusammenwirken von extranukleären Mikrotubuli und der Kernhülle bei Chromatinbewegungen während der späten Prophase, ist für **Polytoma** auf Grund des Fehlens entsprechender Mikrotubuli nicht zutreffend.

Ab der Metaphase befinden sich Mikrotubuli vorwiegend in der Randzone des Kerns. Ebenso sind die Kinetochore der miteinander assoziierten und deshalb nicht einzeln auflösbaren Chromosomen

peripher lokalisiert. Die zentralen Zonen beiderseits der Äquatorialplatte werden von Material besetzt, das stärker granuliert ist als die periphere mikrotubulihaltige Zone. In späteren Mitosestadien geht diese ausgeprägte Zonierung verloren. Gleichzeitig haben die Anaphaseplatten deutlich an Volumen zugenommen. Wie an anderer Stelle (Gaffal et al. 1983) schon angesprochen, darf dieser Zuwachs als eine Assoziation von vermutlich aus der zentralen Zone stammenden dispergiertem Nukleolusmaterial mit den wandernden Anaphaseplatten interpretiert werden. Die Assoziation von Chromosomen und Nukleolusmaterial ist nicht ungewöhnlich (Pickett-Heaps 1970a; Paweletz & Risueno 1982). Neben dem Abbau des Spindelapparates ist die Telophase bei **Polytoma** durch eine beträchtliche Reduktion des Kernvolumens charakterisiert (Gaffal et al. 1983).

Nach diesem Überblick über einige Begleiterscheinungen der Mitose, sollen einige Aspekte in Hinblick auf das Mikrotubuliinventar genauer erörtert werden.

1. Aus der Bestimmung der Volumina und der Oberflächen von ganzen Zellen und Kernen in Abhängigkeit vom Zellzyklus läßt sich folgern:

a) Das minimale Volumen einer zur Teilung fähigen Zelle liegt bei ca. $200\mu\text{m}^3$

b) Zellen, deren Volumen in Bereich von $200\text{--}400\mu\text{m}^3$ liegt, sind zu einer Teilung, solche im Bereich von $400\text{--}800\mu\text{m}^3$ sind zu 2 Teilungen befähigt usw..

Die Zahl der möglichen Teilungsschritte hängt also von der Größe der Ausgangszelle ab. Ein Ergebnis, das auch nach Untersuchungen an **Chlamydomonas** erhalten wird (Craigie & Cavalier-Smith 1982; Donnan & John 1983).

Bei der Betrachtung der Gesamtlängen der intranukleären Mikrotubuli während der Mitose müssen 2 Einflüsse berücksichtigt werden: Volumen- und phasenabhängige Schwankungen.

Im Kern einer Zelle, in der auf Grund des Volumens noch eine zweite Teilung möglich wäre, ist eine ungefähr doppelt so große Gesamtmikrotubulilänge festgestellt worden als in Kernen während der letztmöglichen Teilung. Die Gesamtmikrotubulilängen während der letztmöglichen Teilung (Volumenbandbreite: $200\text{--}400\mu\text{m}^3$) schwanken in **Polytoma** bei Ausklammerung der Prophase nur geringfügig in Abhängigkeit von der Mitosephase und bleiben unbeeinflußt von den weit gestreuten (Faktor ca. 1,9) Kernvolumina. Die Mikrotubulimenge des Spindelapparates ist also nicht proportional zum Zell- oder Kernvolumen, sondern ändert sich stufenweise mit der Zahl der noch möglichen Teilungsschritte. Ein unerwartetes Ergebnis,

das anderswo keine Parallelen besitzt. Wahrscheinlich kommt diese Form der Regulation des Spindelapparates nur bei Organismen vor, die die Fähigkeit besitzen aufeinanderfolgende Zellteilungen ohne zwischengeschaltetes Zellwachstum zu durchlaufen. Bei **Polytoma** sind innerhalb einer Volumenbandbreite vom Zellvolumen abhängende Variationen des intranukleären Mikrotubuliinventars ausgeschlossen. Diese Alge scheint somit für die Analyse von phasenspezifischen Änderungen des Spindelapparates während der Mitose außerordentlich geeignet.

2. Das Mikrotubuliinventar während der Mitose von **Polytoma** wurde mit 2 Methoden (a und b) erfaßt. Das recht objektive Auswerteverfahren durch Zählen der Mikrotubulipprofile pro Kernquerschnitt, und die Auftragung der Werte entlang der Kernlängsachse führte zu einer Verteilung der Mikrotubulimasse (a). Dies ermöglicht den Vergleich von **Polytoma** mit Organismen, in denen auf Grund des hohen Mikrotubuli-gehalts der Spindel keine Rekonstruktionen durch Verfolgen der Mikrotubuli von Schnitt zu Schnitt (b) möglich sind. Bei der Kieselalge **Fragillaria** liegen die Kinetochormikrotubuli seitlich von der sog. Zentralspindel (= 2 sich in der Äquatorialzone des Kerns überlappende Mikrotubulipopulationen). Die Verteilung der Mikrotubulimasse ist bei diesem Organismus eingipfelig. Das Maximum liegt in der Zone der Überlappung (Tippit et al. 1978). Entsprechende Untersuchungen an Zelltypen ohne Abtrennung der Kinetochormikrotubuli von der übrigen Spindel (Brinkley & Cartwright 1971; Fuge 1973; Mc Intosh & Landis 1971; Mc Intosh et al. 1975; Tippit et al. 1980; Roos 1981) führten bei der Verteilung der Mikrotubulimasse entweder zu einem Kurvenzug mit einem zentralen Plateau, oder, wie auch bei **Polytoma**, zu einem Kurvenzug mit 2 Gipfeln, die beiderseits der Metaphaseplatte auftreten. Daraus folgt, daß die Maxima hauptsächlich Kinetochormikrotubuli enthalten. Die Verschmälerung und möglicherweise auch die Verschiebung der Gipfel der Mikrotubulimasse beim Übergang von der Meta- zur Anaphase ist also vor allem auf Veränderungen innerhalb der Kinetochormikrotubuli zurückzuführen. Der gleichzeitig festgestellte Rückgang der Zahl der Mikrotubulianschnitte in der Interzonalspindel belegt zudem das Verschwinden von Mikrotubuli aus diesem Bereich. Wenn bei **Polytoma** der in anderen Zelltypen (Mc Intosh & Landis 1971; Tippit et al. 1978) mehr oder weniger ausgeprägte Gipfel der Zahl der Mikrotubulipprofile im mittleren Teil der Interzonalspindel der Anaphase (Telophase wurde nicht untersucht) ausbleibt, so kann das an der Unschärfe ("sloopy": Mc Intosh et al. 1975) der Überlappungszone liegen. Zur Verteilung

der Mikrotubulimasse kann abschließend festgehalten werden, daß durch ihre Analyse kaum die Aufklärung der Mechanismen von Bewegungsvorgängen während der Mitose erfolgen kann.

Wie Roos (1981) ausführt, läßt der Vergleich von Mitosestadien bezüglich der Verhaltens der Verteilung der Mikrotubuli mehrere Interpretationen zu und schlägt als Ausweg die Rekonstruktion des Mikrotubuliinventars vor. Für diese in Hinblick auf das Auflösungsvermögen höhere Stufe der Spindelanalyse eignen sich wegen des damit verbundenen Aufwands nur Zelltypen mit kleinen Spindeln. Andernfalls muß die Analyse auf Teile des Spindelapparates beschränkt bleiben. Des weiteren sind die Ergebnisse, die aus dem Verfolgen von Mikrotubuli resultieren, mit einem Fehler behaftet, dessen Umfang nur schwer abgeschätzt werden kann, dessen Quellen aber im folgenden kurz aufgezeigt werden sollen. Auf Grund der leicht schwankenden Schnittdicken und folglich unterschiedlicher Streckung der Schnitte beim Glätten verändert sich die Lage der Mikrotubuliprofile in aufeinanderfolgenden Schnitten auch methodisch bedingt, und das Verfolgen wird erschwert. Weitere Unsicherheiten entstehen speziell bei **Polytoma** durch die stellenweise vorhandenen schräg zur Schnittebene verlaufenden Mikrotubuli, deren Profile von Schnitt zu Schnitt ihre relative Lage zu Bezugspunkten überdurchschnittlich stark verändern. Es obliegt dem Auswerter, diese Einflüsse abzuschätzen und die bestmögliche Deckung zwischen Folgeschnitten herzustellen. Es besteht weiterhin die Möglichkeit, daß 2 Tubuli nicht als getrennt erkannt werden, weil ihre beiden Enden zu nahe beieinander liegen. Umgekehrt können leichte Unregelmäßigkeiten im Tubulusverlauf das Vorliegen von 2 getrennten Tubuli vortäuschen. Da aber der größte Teil der Mikrotubuli zuverlässig verfolgt werden kann, sind einige Aussagen möglich.

Im Vergleich zur Spindel von **Ochromonas** (Tippit et al. 1980) besitzt **Polytoma** relativ viele freie Mikrotubuli. Da aber Roos (1981) bei **Dictyostelium** gleichermaßen viele freie Mikrotubuli findet, sind aus diesen Diskrepanzen eher Unterschiede zwischen den Arten als Fehler bei der Auswertung abzuleiten. Die freien Mikrotubuli könnten sich bei **Polytoma** während der Kernstreckung von einem wie auch immer gearteten MTOC abgelöst haben und im Kern erhalten bleiben. Der Tubulus, dem das rinnenförmige Ende eines anderen Tubulus anhängt, erinnert an die Mikrotubuli, die nach Inkubation von Spindeln in einem Tubulinüberschuß (z.B. Euteneuer & McIntosh; Euteneuer et al. 1982) gewonnen wurden. Dies kann als Hinweis darauf betrachtet werden, daß im Kern von **Polytoma** während der Mitose bis zur Anaphase Tubulin im Über-

schuß vorliegt, und deshalb freie Mikrotubuli stabilisiert werden. Ein weiterer Unterschied zwischen **Polytoma** und **Ochromonas** liegt im Auftreten von Mikrotubuli mit zentralem Filament. Solche Mikrotubuli bauen bei **Ochromonas** die ganze Spindel auf (Tippit et al. 1980), während sie bei **Polytoma** äußerst selten beobachtet werden. Die Bedeutung dieses zentralen Filaments ist ungeklärt. Betrachtet man außerdem die bei anderen Arten auftretenden Schwankungen im Mikrotubulinventar auf Grund unterschiedlicher Zellgrößen, so sollte klar werden, daß der Vergleich von Spindelrekonstruktionen verschiedener Arten nicht problemlos ist.

Die Analyse der Spindelgenese von **Polytoma** ergab eine interessante Beziehung zwischen Mikrotubuliendigungen und Kernmembran. Die während der frühen Prophase an der polwärtigen Kerninnenseite vorhandenen sog. polaren Körper, die als MTOCs interpretiert wurden, sind bis zur späten Prophase verschwunden, obwohl der Spindelapparat noch nicht vollständig ausgebildet ist. Bei der Suche nach anderen MTOCs hilft die Beobachtung weiter, daß die Zahl der Mikrotubuliendigungen in Nachbarschaft zur Kernmembran bis zur Anaphase konstant bleibt, obgleich die Mikrotubulizahl bis zur Metaphase weiterhin zunimmt. Während der späten Prophase sind also bezüglich des gesamten Mikrotubuligehalts vergleichsweise mehr Mikrotubulien an der Kernmembran lokalisiert als während der folgenden Stadien. Möglicherweise fungiert die innere Membran der Kernhülle ab der späten Prophase als MTOC und löst die polaren Körper bei dieser Funktion ab. Beispiele für die Assoziation zwischen Membran und Mikrotubuliendigungen während der Mitose gibt es nicht nur bei den Protozoen (Eichenlaub-Ritter & Ruthmann 1982) und Pilzen (Mims 1972), sondern auch bei Zelltypen mit offener Mitose (Schmiedel et al. 1981).

Der während der Prophase erfolgende Aufbau des Spindelapparates kommt in der gegenüber den folgenden Stadien geringeren durchschnittlichen Länge der vorhandenen Mikrotubuli zum Ausdruck. Daß dieser Wert über ein Maximum während der Metaphase zur Anaphase hin wieder abnimmt, liegt an der Verkürzung der Kinetochormikrotubuli.

Nicht so eindeutig zu beantworten ist die Frage, ob sich Kinetochormikrotubuli beim Übergang von der Meta zur Anaphase polwärts verschieben. Wenn auch der Vergleich der Rekonstruktionen zu diesem Eindruck verleitet, darf man nicht außer Acht lassen, daß die analysierten Kerne von unterschiedlicher Länge waren. Hier zeigt sich bereits ein Nachteil auch der Rekonstruktion von ganzen Spindeln.

Naturgemäß kann nicht die gleiche Spindel während aller Mitosestadien untersucht werden, und der Vergleich von Spindeln aus verschiedenen Zellen kann zu falschen Schlüssen führen. Auf Grund der bei **Polytoma** gewonnenen Daten ist es jedoch wahrscheinlicher, daß die Kernsteckung mit Erreichen der Metaphase nahezu abgeschlossen ist. Das bedeutet nach der von Inoue & Ritter (1975) vorgeschlagenen Einteilung der Anaphasebewegungsvorgänge, daß die Kernstreckung (Anaphase B) praktisch beendet ist, bevor die Anaphase A (Annäherung der Chromosomen an die Pole) einsetzt. Diese zeitliche Trennung von Anaphase A und B erlaubt die Analyse der Zustände, die bezüglich der Mikrotubuli während der beiden Bewegungen vorliegen. Im folgenden sollen zuerst die Kernstreckung und dann die Anaphase A mit starker Beachtung der Kinetochore behandelt werden.

Für das Verständnis der Kernstreckung bei **Polytoma** ist die Verknüpfung von Angaben über die Abstände der Mikrotubuli zueinander mit Daten aus der Rekonstruktion der Mikrotubuli bei einem späten Prophase-, einem Metaphase- und einem Anaphasekern nötig. Von der Prophase zur Anaphase zunehmend treten Mikrotubuli in der Äquatorial-ebene bzw. Interzonalspindel der Kerne zu Clustern zusammen, wobei die Mikrotubuli bevorzugt Abstände von 30-50nm zueinander einnehmen. In diesem Bereich liegen auch die Werte, die nach vergleichbaren Analysen bei anderen Organismen gewonnen wurden (Mc Donald et al. 1979; Roos 1981; Tippit et al. 1983). Zwischen der Anzahl der Mikrotubulipaare mit kurzem (30-50nm) intermikrotubulären Abstand, die außerdem noch die per Definition (vgl. Ergebnisse: 5.2.5.) gegebene Voraussetzungen für Überlappung erfüllen, und der Kernstreckung konnte keine Korrelation gefunden werden. Somit sind sog. überlappende Mikrotubuli während der Phase, in der der Hauptanteil der Kernsteckung abläuft (Prophase), nur gering ausgebildet. Dagegen sind überlappende Mikrotubuli während der Anaphase, in der die Kernstreckung weitgehend abgeschlossen ist, sehr stark vertreten. Gleiten von überlappenden Mikrotubuli ist also bei **Polytoma** wahrscheinlich nicht die Ursache für die Kernstreckung. Ein ähnlicher Schluß wird auch aus der Fortdauer der Anaphase B nach der Zerstörung von Mikrotubuli der Interzonalspindel gezogen (Aist & Berns 1981; Kronebusch & Borisy 1981). Diese Autoren weisen den Mikrotubuli der Interzonalspindel eine Rolle bei der Regulation der Kernstreckung zu, wohingegen die Kraft dazu von den in beiden Fällen vorhandenen Astermikrotubuli herrühren soll. Während der erste Vorschlag auch für **Polytoma** gültig sein mag, kann die Kraft für die Kernstreckung bei **Polytoma** nur in ihrem ersten Stadium

(frühe Prophase) von asterartigen Mikrotubuli stammen, da diese dann abgebaut werden. Für den von der späten Prophase bis zur Metaphase ablaufenden Anteil der Kernstreckung sind keine cytoplasmatischen Mikrotubuli verantwortlich zu machen. Im Widerspruch zu den Daten von Aist & Berns (1981) und Kronebusch & Borisy (1981) stehen die Ergebnisse von Hiramoto & Shoji (1982). Wenn die Interzonalregion von "Sand-Dollar-Eiern" mit einer Mikropipette entfernt oder durch ein Glasscheibchen durchgetrennt wurde, dann erfolgte eine deutlich geringere Kernstreckung, oder sie ist mehr oder weniger behindert. Diese Ergebnisse sind allerdings unter dem Vorbehalt zu werten, daß die Manipulationen eine starke Beeinträchtigung für die Zelle darstellen.

Bemerkenswerterweise dauert auch nach dieser Störung die Anaphase A an. Das Wirkungsfeld der verantwortlichen Kräfte muß also zwischen Anaphaseplatte und Pol lokalisiert sein. Wenngleich der Transport von kinetochorlosen Fragmenten zu den Kernpolen möglich ist (Fuge 1975), sind Chromatiden in der Regel über Kinetochore mit Mikrotubuli verbunden. Die Trennung dieser Verbindung führt zu Störungen bei der Verteilung der Chromatiden (Mc Neil & Berns 1981). Deshalb scheint es aussichtsreich, über die Analyse der Kinetochorstruktur und der mit ihnen assoziierten Mikrotubuli Aufschluß über die Anaphase A zu gewinnen.

Mit ihrem Aufbau aus 3 dichten und 2 transparenten Schichten sind die Kinetochore von **Polytoma** komplexer organisiert als die Strukturen aus insgesamt 3 Lagen, die sowohl in Säugerzellen (Rieder, 1982) als auch bei Algen (Pickett-Heaps & Fowke 1969) beschrieben wurden. Im Gegensatz zu den Beobachtungen von Triemer & Brown (1974) an **Chlamydomonas moewusii** besitzt **Polytoma** schon weit vor der Anaphase nämlich ab der Prometaphase Kinetochore. An jeder Seite der Äquatorialplatte und an jeder Anaphaseplatte wurden 14-15 Kinetochore gefunden. Bedenkt man die Unsicherheit bei der Erkennung der Kinetochore, so besitzt **Polytoma** im haploiden Satz mit höherer Wahrscheinlichkeit 15 als 14 Chromosomen. Bei Annäherung an die äußere Lage der Kinetochore verlieren die Mikrotubuli die sie üblicherweise (Behnke 1975) umgebende helle Zone. Die Enden der Kinetochormikrotubuli sind vom Material der äußeren Lage umschlossen. Auch die von Ryser (1970) am Ende der Kinetochormikrotubuli von **Physarum** beobachteten Filamente treten bei **Polytoma** auf. Diese Strukturdetails können im Sinne einer Verankerung der Mikrotubuli am Kinetochor interpretiert werden,

wie sie auch von Nicklas & Staehly (1967) und Nicklas et al. (1982) nach Mikromanipulation gezeigt wurde.

Die Zahl der mit den Kinetochorn verbundenen Mikrotubuli steigt bei *Polytoma* von der Meta- zur Anaphase hin an, wie auch für den Metaphase I-Anaphase I-Übergang bei der Meiose von *Drosophila* berichtet wird (Lin et al. 1981). Dagegen bleibt die Zahl der Kinetochormikrotubuli im gleichen Organismus bei der zweiten meiotischen Teilung (Lin et al. 1981) und bei der Meiose von *Pales* (Fuge 1980) beim Metaphase-Anaphase-Übergang konstant. Für die Mitose von *Haemaphys* wird im gleichen Zeitraum ein geringer Rückgang des Wertes berichtet (Jensen 1982). Die Zunahme der Kinetochormikrotubuli von Meta- zur Anaphase hin könnte darin begründet sein, daß ein früher Metaphasekern analysiert wurde, und die Kinetochormikrotubuli noch nicht vollständig ausgebildet waren. Weiterhin besteht die Möglichkeit, daß Kinetochore bei ihrer polwärts gerichteten Wanderung polare Mikrotubuli, auf die sie treffen, "einfangen". Bestimmungen der Polarität von Kinetochormikrotubuli (Euteneuer & McIntosh 1981) können so interpretiert werden, daß von vornherein alle Kinetochormikrotubuli vom Kinetochor eingefangen werden. Will man aber dem Anstieg der Zahl der am Kinetochor ansitzenden Mikrotubuli eine Bedeutung zumessen, so könnte sie aus der Zunahme des Volumens der Anaphaseplatten abgeleitet werden. Zum Transport des sich von Meta- zur Anaphase hin vergrößernden Volumens sind möglicherweise mehr Mikrotubuli nötig. Allerdings finden weder Lin et al. (1981) noch Moens (1979) eine Korrelation zwischen Chromosomengröße und Zahl der ansitzenden Mikrotubuli.

Der Vergleich der gesamten Länge der Kinetochormikrotubuli zwischen der Meta- und der Anaphase gestaltet sich bei *Polytoma* schwierig, da der analysierte Anaphasekern asymmetrisch gebaut war. Die gesamte Länge der Kinetochormikrotubuli für die dem Kernpol näher stehende Anaphaseplatte liegt unter dem entsprechenden Wert für den Metaphasekern. Bei der vom Kernpol weiter entfernten Anaphaseplatte liegt die gesamte Länge der Kinetochormikrotubuli über der des Metaphasekerns. Sowohl die Zahl als auch die aufsummierten Längen der Kinetochormikrotubuli sind bei der dem Pol näher liegenden Anaphaseplatte geringer als in der entgegengesetzten Kernhälfte. Damit entsteht bezüglich der Anaphase A die Frage, ob Mikrotubuli an der Bewegung aktiv beteiligt sind, wie die Zunahme der Zahl der Kinetochormikrotubuli beim Metaphase-Anaphase-Übergang nahelegen könnte, oder ob Depolymerisation von

Kinetochormikrotubuli eine kontrollierende Aufgabe wahrnimmt, wie aus der zeitlichen Verzögerung der Polwanderung der Anaphaseplatte mit dem größeren Mikrotubuliinventar geschlossen werden könnte. Im Augenblick kann diese Frage nicht beantwortet werden.

Erwartungsgemäß nimmt allerdings die durchschnittliche Länge der Kinetochormikrotubuli von der Meta- zur Anaphase hin ab. Die Verringerung der gesamten Mikrotubulilänge in dieser Zeitspanne (ca. 100µm) liegt in der gleichen Größenordnung wie der Verlust an Kinetochormikrotubuli (ca. 70µm), so daß Depolymerisation von Mikrotubuli während der Anaphase hauptsächlich zu Lasten der Kinetochormikrotubuli geht.

Von den in der Einleitung (3.3) vorgestellten Konzepten zur Mitose erscheinen einige auf Grund der gewonnenen Daten für **Polytoma** unwahrscheinlich. Betrachtet man die Abwesenheit von Mikrofilamenten bei der Mitose von **Polytoma** nicht als präparationsbedingt (vgl. aber Maupin-Szamier & Pollard 1978), so sind entsprechende Modelle ausgeschlossen. Das gelegentliche Auftreten von Kinetochoren, denen nur ein Tubulus ansitzt, spricht gegen die Gültigkeit der sog. "zipper" - Hypothese von Bajer (1973). Jedoch könnten jene nach dieser Vorstellung antriebslosen Chromosomen angesichts der Kompaktheit der Anaphaseplatten von den angetriebenen Chromosomen mitgezogen werden. Gleiten oder Drehbewegungen überlappender Mikrotubuli gegeneinander scheinen bei **Polytoma** für die Kernstreckung unbedeutend zu sein, da im Zeitraum maximaler Streckungsaktivität die Überlappung nach den hier zugrunde gelegten Kriterien am geringsten ist. Die vorliegenden Daten lassen es nicht zu, Auf- oder Abbau von Mikrotubuli oder eine Interaktion von Mikrotubuli mit der Kernmatrix auf ihre Wirksamkeit bei der Mitose von **Polytoma** zu prüfen. Die eingangs geäußerte Hoffnung, im Zuge der Untersuchungen ein gültiges Modell für die Mitosebewegungen bei **Polytoma** zu erhalten, hat sich somit nicht erfüllt. Allerdings scheint die quantitative Analyse von Serienschnitten sehr wohl geeignet, wenigstens für Teilbereiche Lösungen und Diskussionsgrundlagen zu liefern.

V Z u s a m m e n f a s s u n g

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich in erster Linie mit dem morphodynamischen Verhalten des Mikrotubuliinventars während des vegetativen und einer frühen Phase des generativen Zellzyklus von *Polytoma papillatum*, einem einzelligen heterotrophen Phytoflagellaten. Die Daten beruhen auf der qualitativen und quantitativen Analyse von Serien ultradünner Schnitte durch ganze Zellen oder Teile von ihnen.

Das Mikrotubuliinventar läßt sich unterteilen in:

- I. cytoplasmatische Mikrotubulisysteme,
- II. intranukleäre (nicht cytoplasmatische) Mikrotubulisysteme.

Die zur Gruppe I zu zählenden, aus Mikrotubuli zusammengesetzten Basalkörper wurden gesondert behandelt. Volumen- und Oberflächenbestimmungen von Zellen und Kernen ergänzten die Arbeit.

Folgende Ergebnisse ließen sich gewinnen:

1. Der Aufbau des Basalkörperkomplexes während der Interphase entspricht bei *Polytoma* dem, der bei Angehörigen der Gattung *Chlamydomonas* angetroffen wird. Beim Übergang von der Preprophase zur Prophase entstehen 2 Spalthälften des Basalkörperkomplexes, die während der Mitose und in jungen Tochterzellen wieder zu kompletten Basalkörperkomplexen regeneriert werden.

Mit einer cytochemischen Methode ließen sich im Basalkörperkomplex keine RNA haltigen Strukturen nachweisen.

2. Von den cytoplasmatischen Mikrotubulisystemen treten besonders in Augenschein:

- a) Mikrotubuli, die zum Teil an einer geschichteten Struktur unterhalb der Basalkörper ansetzen, befinden sich während der in der Preprophase erfolgenden Wanderung des Zellkerns zum apikalen Pol in unmittelbarer Kernnähe. Die ersten Anzeichen für dieses Mikrotubulisystem sind bereits in jungen Tochterzellen innerhalb des Sporangiums vorhanden. Eine Kältebehandlung, die offensichtlich den Verlauf des Zellzyklus zum Zeitpunkt der Preprophase anhält, führt zu keinen signifikanten Veränderungen an diesem Mikrotubulisystem.
- b) In Zellen ab der späten Anaphase bis zur Cytokinese liegen wurzelfaserassoziierte Mikrotubuli in der Teilungsebene und bestimmen diese offensichtlich.
- c) In Tochterzellen vor und nach der Wandbildung noch innerhalb des Sporangiums stellen periphere Mikrotubuli den Hauptteil der Mikro-

tubulimasse. Sie fungieren vermutlich als peripheres Cytoskelett.

d) Im Raum zwischen den getrennt vorliegenden Zellkernen einer jungen Zygote wurden Mikrotubuliaggregate angetroffen, die sich aus der seitlichen Vereinigung von 2 Mikrotubulisystemen in den strukturell mit Interphasezellen identischen Gameten ableiten lassen.

3. Die Teilungskapazität wird bei *Polytoma* in Intervallsprüngen vom Volumen der teilungsbereiten Zellen bestimmt. Die Länge der aufsummierten Mikrotubuli des Spindelapparates steht nicht in direktem Verhältnis zum Zellvolumen sondern folgt der Teilungskapazität.

4. Rekonstruktionen der intranukleären Mikrotubuli in der frühen Prophase und die asymmetrische Verteilung der Mikrotubulimasse in einigen der untersuchten Kerne während der anschließenden Mitosestadien zeigten, daß die Spindelentwicklung in beiden Kernhälften ungleich schnell abläuft.

5. In der ersten Phase der Spindelentwicklung gehen Mikrotubuli von membranständigen, in der Region der Kernpole sitzenden Körpern innerhalb einer wahrscheinlich intakten Kernhülle aus. Dann entstehen polseitige Fenster in der Kernhülle, durch die wenig außerhalb beginnende Mikrotubuli in den Kern einstrahlen können. Während der dritten Phase der Spindelentwicklung dient vermutlich die innere Membran der Kernhülle als Ansatzstelle für Mikrotubuli.

6. Die Rekonstruktion des Mikrotubuliinventars eines späten Prophase-, eines Metaphase- und eines späten Anaphasekerns ergab:

a) Die durchschnittliche Länge der Mikrotubuli sowie die durch Aufsummierung ermittelte Gesamtlänge der Mikrotubuli sind im Metaphasekern am größten.

b) Im Anaphasekern ist die Zahl der Mikrotubuli am höchsten.

7. Die Ergebnisse aus der Messung der intermikrotubulären Abstände in Verbindung mit Angaben zur Kernform erlauben den Schluß, daß eine aktive Rolle für in der Kernmitte überlappende Mikrotubuli bei der Kernstreckung unwahrscheinlich ist.

8. An der äußeren der aus insgesamt 5 Lagen bestehenden Kinetochore setzen ab der Prometaphase Mikrotubuli an. Auf Grund der Kinetochorezahl ist eine Chromosomenzahl von 15 für *Polytoma* wahrscheinlich.

VI Literaturverzeichnis:

1. AIST, J.B., BERNIS, M.W., 1981: Mechanics of chromosome separation during mitosis in *Fusarium* (fungi imperfecti). New evidence from ultrastructural and laser microbeam experiments. *J. Cell Biol.* 91, 446-458.
2. ARES, M.Jr., HOWEL, S.H., 1982: Cell cycle stage-specific accumulation of messenger RNAs encoding tubulin and other polypeptides in *Chlamydomonas*. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 79, 5577-5581.
3. ARNOLD, C.-G., GAFFAL, K.P., 1979: Die räumliche Struktur von Mitochondrien und Plastiden. *Biologie in unserer Zeit* 9, 45-91.
4. ASHTON, M.-L., MOENS, P.B., 1982: Light and electron microscopy of conjugation in the yeast, *Schizosaccharomyces octosporus*. *Can. J. Microbiol.* 28, 1059-1077.
5. ATKINSON, A.W.Jr., JOHN, P.C.L. GUNNING, B.E.S., 1974: The growth and division of the single mitochondrion and other organelles. *Protoplasma* 81, 77-109.
6. BAJER, A.S., MOLE-BAJER, J., 1963: Cine-analysis of some aspects of mitosis in endosperm. In: *Cinematography in Cell Biology* (ROSE, G.G. ed.) pp 357-409. New York: Acad. Press.
7. BAJER, A.S., MOLE-BAJER, J., 1972: Spindle dynamics and chromosome movements. *Int. Rev. Cytol. Suppl.* 3. (BOURNE, G.H., DANIELLI, J.F. eds.) New York: Acad. Press.
8. BAJER, A.S., 1973: Interaction of microtubules and the mechanism of chromosome movement (zipper hypothesis): I. General principle. *Cytobios* 8, 139-160.
9. BAJER, A.S., MOLE-BAJER, J., 1981: Aster, poles, and transport properties within spindlelike microtubule arrays. *Cold Spring Harbor Symp.* 46, Pt1 263-283.
10. BAJER, A.S., CYPHER, C., MOLE-BAJER, J., HOWARD, H.M., 1982: Taxol-induced anaphase reversal - Evidence that elongating microtubules can exert a pushing force in living cells. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 79, 6569-6573.
11. BARBER, H.N., CALLAN, H.G., 1943: The effects of cold and colchicine on mitosis in the newt. *Proc. Roy. Soc. Lond. B* 131, 258-271.
12. BASSEL, A.R., KUEHNERT, C.C., MILLER, J.H., 1981: Nuclear migration and asymmetric cell division in *Onoclea sensibilis* spores: An ultrastructural and cytochemical study. *Am. J. Bot.* 68, 350-360.
13. BEHNKE, O., 1975: Studies on isolated microtubules. Evidence for a clear space component. *Cytobiologie* 11, 366-381.
14. BEREITER-HAHN, J., 1878: A model for microtubular rigidity. *Cytobiologie* 17, 198-300.
15. BERNHARD, W., 1969: A new staining procedure for electron microscopical cytology. *J. Ultrastruct. Res.* 27, 250-265.
16. BIRBECK, T.E., STEWART, K.D., MATTOX, K.R., 1974: The cytology and classification of *Schizomeris leibleinii* (Chlorophyceae): II. The structure of quadriflagellate zoospores. *Phycologia* 13, 71-79.
17. BIRBECK, T.E., 1976: Variation of the flagellar apparatus within the genus *Chlamydomonas*. *J. Phycol.* 12, Suppl. Abstr. 72.
18. BIRCHEM, R., KOCHERT, G., 1979: Development of sperm cells of *Volvox carteri* f. *weismannia*. *Phycologia* 18, 409-419.
19. BLOODGOOD, R.A., 1977: Motility occurring in association with the surface of the *Chlamydomonas* flagellum. *J. Cell Biol.* 75, 983-989.
20. BOUK, G.B., BROWN, D.L., 1973: Microtubule biogenesis and cell shape in *Ochromonas*: I. The distribution of cytoplasmic and mitotic microtubules. *J. Cell Biol.* 56, 340-359.

21. BRAWLEY, S.H., WETHERBEE, R., QUATRANO, R.S., 1976: Fine structural studies of the gametes and embryo of *Fucus vesiculosus* (Phaeophyta): I. Fertilization and pronuclear fusion. *J. Cell Sci.* 20, 233-254.
22. BRAWLEY, S.H., QUATRANO, R.S., 1979: Effects of microtubule inhibitors on pronuclear migration and embryogenesis in *Fucus distichus* (Phaeophyta). *J. Phycol.* 15, 266-272.
23. BRINKLEY, B.R., CARTWRIGHT, J., 1971: Ultrastructural analysis of mitotic spindle elongation in mammalian cells in vitro. *J. Cell Biol.* 56, 360-378.
24. BRINKLEY, B.R., STUBBLEFIELD, E., HSU, T.C., 1967: The effects of colcemid inhibition and reversal on the fine structure of the mitotic apparatus of Chinese hamster cells in vitro. *J. Ultrastruct. Res.* 19, 1-18.
25. BROWN, D.L., BOUK, G.B., 1973: Microtubule biogenesis and cell shape in *Ochromonas*: II. The role of nucleating sites in shape development. *J. Cell Biol.* 56, 360-378.
26. BROWN, D.L., MASSALSKI, A., PATENAUDE, R., 1976: Organization of the flagellar apparatus and associated cytoplasmic microtubules in the quadriflagellate alga *Polytomella agilis*. *J. Cell Biol.* 69, 106-125.
27. BROWN, R.C., LEMMON, B.E.L., 1982: Ultrastructure of meiosis in the moss *Rhynchostegium serrulatum*: I. Prophase microtubules and spindle dynamics. *Protoplasma* 110, 23-33.
28. BROWN, R.C., LEMMON, B.E.L., 1983: Microtubule organization and morphogenesis in young spores of the moss *Tetraphis pellucida* Hedw.. *Protoplasma* 116, 115-124.
29. BROWN, R.M.Jr., JOHNSON, C., BOLD, H.C., 1968: Electron and phase contrast microscopy of sexual reproduction in *Chlamydomonas moewusii*. *J. Phycol.* 4, 100-120.
30. BRYAN, J., 1974: Biochemical properties of microtubules. *Fedn. Proc. Fedn. Am. Soc. Exp. Biol.* 33, 152-157.
31. BURCH, M.D., MARCHANT, H.J., 1982: Motility and microtubule stability of antarctic algae at sub-zero temperatures. *Protoplasma* 115, 240-242.
32. CHANG, J.P., MAYAHARA, H., YOLOYAMA, M., UBUKATA, A., MOLLER, P.C., 1979: An ultrastructural study of morphogenesis of fibro-granular complex and centriole in ductuli efferentes of Chinese hamster. *Tissue & Cell* 11, 401-412.
33. CANTOR, M.H., KLOTZ, J., 1971: Synchronous growth of *Polytomella agilis*. *Experientia* 27, 801-806.
34. CAVALIER-SMITH, T., 1974: Basal body and flagellar development during the vegetative cell cycle of *Chlamydomonas reinhardtii*. *J. Cell Sci.* 16, 529-556.
35. CHURCH, K., LIN, H.-P., 1982: Meiosis in *Drosophila melanogaster*: II. The prometaphase 1 kinetochore microtubule bundle and kinetochore orientation in males. *J. Cell Biol.* 93, 365-373.
36. CRAIGIE, R.A., CAVALIER-SMITH, T., 1982: Cell volume and the control of the *Chlamydomonas* cell cycle. *J. Cell Sci.* 54, 173-191.
37. DEASEON, P.F., RYALS, P.E., O'KELLEY, J.C., BULLOCK, K.W., 1979: Fine structure of mitosis and cleavage in *Friedmannia israelensis* (Chlorophyceae; Chlorosarcinaceae). *J. Phycol.* 15, 452-457.
38. DEASON, T.R., DARDEN, W.H.Jr., 1971: The male initial and mitosis in *Volvox*. In: *Contributions in Phycology* (PARKER, B.C., BROWN, R.M., eds.) pp 67-79. Lawrence: Allen Press.
39. DEASON, T.R., O'KELLEY, J.C., 1979: Mitosis and cleavage during zoosporogenesis in several coccoid green algae. *J. Phycol.* 15, 371-378.

40. DIETRICH, J., 1979: Reconstructions tridimensionnelles de l'appareil mitotique a partir de coupes seriees longitudinales de meiocytes poliniques. *Biol. Cell.* 34, 77-82.
41. DIPPELL, R.V., 1968: The development of basal bodies in *Paramecium*. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 61, 461-468.
42. DODSON, E.O., 1979: Crossing the eukaryote-prokaryote border: Endosymbiosis or continous development. *Can. J. Microbiol.* 25, 651-674.
43. DOMOZYCH, D.S., MATTOX, K.R., STEWART, K.D., 1981: The role of microtubules during the cytokinetic events of cell wall ontogenesis and papilla development in *Carteria crucifera*. *Protoplasma* 106, 193-204.
44. DONNAN, L., JOHN, P.C.L., 1983: Cell cycle control by timer and sizer in *Chlamydomonas*. *Nature* 306, 630-633.
45. DOUGLAS, W.H.J., 1970: Perchloric acid extraction of desoxyribonucleic acid from thin sections of Epon-Araldite-embedded material. *J. Histochem. Cytochem.* 18, 510-514.
46. DUCKETT, J.G., CAROTHERS, Z.B., 1982: The assembly of flagella during spermatogenesis in land plants. In: *Symp. Soc. Exp. Biol.* Nr XXXV, Prokaryotic and Eukaryotic Flagella pp 533-561. Cambridge: Univ. Press.
47. DUSTIN, P., 1978: Microtubules. Heidelberg: Springer.
48. EUTENEUER, U., MC INTOSH, J.R., 1981: Structural polarity of kinetochore microtubules in PtK1 cells. *J. Cell Biol.* 89, 338-345.
49. EUTENEUER, U., JACKSON, W.T., MC INTOSH, J.R., 1982: Polarity of spindle microtubules in *Haemanthus* endosperm. *J. Cell Biol.* 644-653.
50. EICHENLAUB- RITTER, U., RUTHMANN, A., 1982: Evidence of three "classes" of microtubules in the interpolar space of the mitotic micro-nucleus of a ciliate and the participation of the nuclear envelope in conferring stability to microtubules. *Chromosoma* 85, 687-706
51. ELLIOT, A.M., 1973: Life cycle and distribution of *Tetrahymena*. In: *Biology of Tetrahymena* (ELLIOT, A.M. ed.) pp 259-286. Stroudsburg: Dowden, Hutchinson & Ross.
52. ETTEL, H., GERLOFF, J., HEYNING, H., MOLLENHAUER, D., (Hrsg.) 1983: Süßwasserflora von Mitteleuropa, Bd.9: Ettel: Chlorophyta I. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag.
53. FALK, H., 1967: Zum Feinbau von *Botrydium granulatum* Grev. (Xanthophyceae). *Arch. Mikrobiol.* 58, 212-227.
54. FLOYD, G.L., 1978: Mitosis and cytokinesis in *Asteromonas gracilis*, a wall-less green monad. *J. Phycol.* 14, 440-445.
55. FORER, A., 1978: Chromosome movements during cell-division: Possible involment of actin filaments. In: *Nuclear Division in the Fungi* (HEATH, J.B., ed.) pp 21-88. New York: Acad. Press.
56. FORER, A., JACKSON, W.T., ENGBERG, A., 1979: Actin in spindles of *Haemanthus katherinae* endosperm: II. Distribution of actin in chromosomal spindle fibers, determined by analysis of serial sections. *J. Cell Biol.* 37, 349-371.
57. FOWKE, L.C., PICKETT-HEAPS, J.P., 1969: Cell division in *Spirogyra* II. Cytokinesis. *J. Phycol.* 5, 273-281.
58. FUGE, H., 1971: Spindelbau, Mikrotubuliverteilung und Chromosomenstruktur während der I. meiotischen Teilung der Spermatocyten von *Pales ferruginea*. *Z. Zellforsch.* 120, 579-599.
59. FUGE, H., 1973: Verteilung der Mikrotubuli in Metaphase- und Anaphase-Spindeln der Spermatocyten von *Pales ferruginea*. *Chromosoma* 43, 109-143.

- 60.FUGE,H., 1974: The arrangement of microtubules and the attachment of chromosomes to the spindle during anaphase in tipulid spermatocytes. *Chromosoma* 45, 245-260.
- 61.FUGE,H., 1975: Anaphase transport of akinetochoric fragments in tipulid spermatocytes. Electron microscopic observations on fragment spindle interactions. *Chromosoma* 52, 149-158.
- 62.FUGE,H., 1977: Ultrastructure of the mitotic spindle. *Int. Rev. Cytol. Suppl.* 6, 1-52. (BOURNE,G.H., DANIELLI,J.F.,eds.) New York: Acad. Press.
- 63.FUGE,H., 1980: Microtubule disorientation in anaphase half-spindles during autosome segregation in crane fly spermatocytes. *Chromosoma* 76, 309-328.
- 64.FUGE,H., 1981: Tannic acid mordanting of a meiotic spindle - no evidence for a microfilament system. *Eur. J. Cell Biol.* 25, 90-94.
- 65.FUTAESAKU,Y., MIZUHIRA,V., NAKAMURA,H., 1972: A new fixation method using tannic acid for electron microscopy and some observations of biological specimens. *Proc. Int. Congr. Histochem. Cytochem.* 4, 155-165.
- 66.GAFFAL,K.P., 1977: The relationship between basal bodies and the motility of *Polytoma papillatum* flagella. *Experientia* 33, 1372
- 67.GAFFAL,K.P., KREUTZER,D., 1977: The mitochondria of *Polytoma papillatum* at two different stages of the vegetative cell cycle. *Protoplasma* 91, 167-177.
- 68.GAFFAL,K.P., 1978: Configurational changes in the plastidome of *Polytoma papillatum* after completion of cytokinesis and during fusion of the gametes. *Protoplasma* 94, 175-191.
- 69.GAFFAL,K.P., SCHNEIDER, G.J., 1978: The changes in ultrastructure during fertilization of the colourless flagellate *Polytoma papillatum* with special reference to the configurational changes of their mitochondria. *Cytobiologie* 18, 161-173.
- 70.GAFFAL,K.P., SCHNEIDER,G.J., 1980a: Numerical, morphological and topographical heterogeneity of the chondriome during the vegetative life cycle of *Polytoma papillatum*. *J. Cell Sci.* 46, 299-312.
- 71.GAFFAL,K.P., SCHNEIDER, G.J., 1980b: Morphogenesis of the plastidome and the flagellar apparatus during the vegetative life cycle of the colourless phytoflagellate *Polytoma papillatum*. *Cytobios* 27, 43-61.
- 72.GAFFAL,K.P., GAFFAL,S.I., SCHNEIDER,G.J., 1982: Morphometric analysis of several intracellular events occurring during the vegetative life cycle of the unicellular alga *Polytoma papillatum*. *Protoplasma* 110, 185-195.
- 73.GAFFAL,K.P., WOLF,K.W., SCHNEIDER,G.J., 1983: Morphometric and chronobiological studies on the dynamics of the nuclear envelope and the nucleolus during mitosis of the colourless phytoflagellate *Polytoma papillatum*. *Protoplasma* 118, 19-35.
- 74.GALATIS,B., 1982: The organization of microtubules in guard cell mother cells of *Zea mays*. *Can. J. Bot.* 60, 1148-1166.
- 75.GALATIS,B., APOSTOLAKOS,P., KATSAROS,C., 1983a: Microtubules and their organizing centres in differentiating guard cells of *Adiantum capillus veneris*. *Protoplasma* 115, 176-192.
- 76.GALATIS,B., APOSTOLAKOS,P., KATSAROS,C., 1983b: Synchronous organization of two prophase microtubule bands and final cell plate arrangement in subsidiary cell mother cells of some *Triticum* species. *Protoplasma* 117, 24-39.
- 77.GALL,J.G., 1961: Centriole replication. A study of spermatogenesis in the snail *Viviparus*. *J. Biochim. Biophys. Cytol.* 10, 163-193.

78. GEALT, M.A., WEEKS, D.P., 1980: Tubulin synthesis in a temperature-sensitive mutant of *Chlamydomonas reinhardtii*.
Exp. Cell Res. 127, 329-339.
79. GIBBONS, I.R., GRIMSTONE, A.V., 1960: On flagellar structure in certain flagellates. J. Biolophys. Biochem. Cytol. 7, 697-716.
80. GIBBARDT, M., 1968: Ultrastructure and dynamics of the moving nucleus. In: Aspects of Cell Motility, 22nd Symp. Soc. Exp. Biol. (MILLER, P.L., ed.) pp 249-259. Cambridge: Univ. Press.
81. GOODENOUGH, V.W., WEISS, R.L., 1978: Interrelationship between microtubules and a striated fiber, and the gametic mating structure of *Chlamydomonas reinhardtii*. J. Cell Biol. 76, 430-438.
82. GOULD, R.B., JONES, R.F., 1968: Electron microscopic observations of microtubules during the synchronized vegetative cell cycle of *Chlamydomonas reinhardtii*. Anat. Rec. 160, 355.
83. GUNNING, B.E.S., HARDHAM, A.R., HUGHES, J.E., 1978: Evidence for inhibition of microtubules in discrete regions of the cell cortex in *Azolla* root-tip cells, and an hypothesis on the development of cortical arrays of microtubules.
Planta 143, 161-179.
84. HEATH, I.B., 1974: Mitosis in the fungus *Thraustotheca clavata*.
J. Cell Biol. 60, 204-220.
85. HEATH, I.B., HEATH, M.C., 1976: Ultrastructure of mitosis in the cowpea rust fungus *Uromyces phaseoli* var. *vignae*.
J. Cell Biol. 70, 592-607.
86. HEATH, I.B., HEATH, M.C., 1978: Microtubules and organelle movements in the rust fungus *Uromyces phaseoli* var. *vignae*.
Cytobiologie 16, 393-411.
87. HEATH, I.B., 1980: Variant mitoses in lower eukaryotes indicators of the evolution of mitosis. Int. Rev. Cytol. 64, 1-80.
(BOURNE, G.H., DANIELLI, J.F., eds.). New York: Acad. Press.
88. HEATH, I.B., 1981a: Mechanisms of nuclear division in fungi.
In: The Fungal Nucleus (GULL, K., OLIVER, S., eds.) pp 85-112.
Cambridge: Univ. Press.
89. HEATH, I.B., 1981b: Mitosis through the electron microscope.
In: Mitosis and Cytokinesis, Cell Biology: A Series of Monographs (ZIMMERMANN, A.M., FORER, A., eds.) pp 245-269.
New York: Acad. Press.
90. HEIDEMANN, S.R., SANDER, G., KIRSCHNER, M.W., 1977: Evidence for a functional role of RNA in centrioles. Cell 10, 337-350.
91. HEPLER, P.K., PALEVITZ, B.A., 1974: Microtubules and microfilaments.
Annu. Rev. Plant Physiol. 25, 309-362.
92. HERR, F.B., HEATH, M.C., 1982: The effects of antimicrotubule agents on organelle positioning in the cowpea rust fungus, *Uromyces phaseoli* var. *vignae*. Exp. Mycol. 6, 15-24.
93. HERTH, W., HECK, B., KOOP, H.U., 1981: The flagellar root system in gamete of *Acetabularia mediterranea*. Protoplasma 109, 257-269.
94. HERTH, W., 1983: Taxol effects cytoskeletal microtubules, flagella and spindle structure of the chrysophagellate alga *Poterioochromonas*. Protoplasma 115, 228-239.
95. HIBBERD, D.J., 1975: Observations of the ultrastructure of the choanoflagellate *Codriga botrytis* (EHR.) Saville Kent with special reference to the flagellar apparatus.
J. Cell Sci. 17, 191-219.
96. HIRAMOTO, Y., SHOJI, Y., Location of the motive force for chromosome movement in sand-dollar eggs. In: Biological functions of Microtubules and Related Structures (SAKAI, H., HOHRI, H., BORISY, G.G. eds.) pp 247-259. Tokyo: Acad. Press.
97. HOFFMAN, L.R., 1974: Fertilization in *Oedogonium*: III. Karyogamy.
Am. J. Bot. 61, 1076-1090.

98. HOLMES, K.V., CHOPPIN, P.W., 1968: On the role of microtubules in movement and alignment of nuclei in virus-induced syncytia. *J. Cell Biol.* 39, 526-543.
99. HOOPS, H.J. 1971: The fine structure of *Eudorina illinoensis* (Kofoid) Pascher. *Br. J. Phycol.* 6, 81-103.
100. HOOPS, H.J., FLOYD, G.L., SWANSON, J.A., 1982: Ultrastructure of the biflagellate motile cells of *Ulvaria oxysperma* (Kütz.) blinding and phylogenetic relationship among ulvophyceae algae. *Am. J. Bot.* 69, 150-159.
101. HOOPS, H.J., FLOYD, G.L., 1983: Ultrastructure and development of the flagellar apparatus and flagellar motion in the colonial green alga *Astrephomene gubernaculifera*. *J. Cell Sci.* 63, 21-41.
102. HYAMS, J.S., BORISY, G.G., 1975: Flagellar coordination in *Chlamydomonas reinhardtii*: Isolation and reactivation of the flagellar apparatus. *Science* 189, 891-893.
103. HYAMS, J.S., BORISY, G.G., 1978: Isolated flagellar apparatus of *Chlamydomonas*: Characterization of forward swimming and alteration of waveform and reversal of motion by calcium ions in vitro. *J. Cell Sci.* 33, 235-253.
104. INOUE, S., BAJER, A.S., 1961: Birefringence in endosperm mitosis. *Chromosoma* 12, 48-63.
105. INOUE, S., SATO, H., 1967: Cell motility by labile association of molecules: the nature of the mitotic spindle fibers and their role in chromosome movement. *J. gen. Physiol.* 50, 268-292.
106. INOUE, S., RITTER, H.Jr., 1975: Mitosis and nuclear morphogenesis in a two-stage anaphase of *Barbulanympha*. *Bio Systems* 7, 309.
107. JENKINS, R.A., 1977: The role of microtubules in macronuclear division of *Blepharisma*. *J. Protozool.* 24, 246-275.
108. JENSEN, C.G., 1982: Dynamics of spindle microtubule organization. Kinetochore fiber microtubules of plant endosperm. *J. Cell Biol.* 92, 540-558.
109. JOHNSON, U., PORTER, K.R., 1968: Fine structure of cell division in *Chlamydomonas reinhardtii*. Basal bodies and microtubules. *J. Cell Biol.* 38, 403-435.
110. JURAND, A., 1976: Some ultrastructural features of micronuclei during conjugation and autogamy in *Paramecium aurelia*. *J. gen. Microbiol.* 94, 193-203.
111. KATZ, K.R., MC LEAN, R.J., 1979: Rhizoplast and rootlet system of the flagellar apparatus of *Chlamydomonas moewusii*. *J. Cell Sci.* 39, 373-381.
112. KIERMAYER, O., 1968a: Mikrotubuli um den Posttelophase-Nukleus von *Micrasterias* und ihre mögliche Funktion. *Ber. Dtsch. Bot. Ges.* 81, 319.
113. KIERMAYER, O., 1968b: Hemmung der Kern- und Chloroplastenmigration von *Micrasterias* durch Colchicin. *Naturwissenschaften* 55, 299-300.
114. KIERMAYER, O., HEPLER, P.K., 1970: Hemmung der Kernmigration von *Jochalgen* (*Micrasterias*) durch Isopropyl-N-phenyl-carbamate. *Naturwissenschaften* 5, 252.
115. KING, S.M., HYAMS, J.S., 1982: Review article: The mitotic spindle of *Saccharomyces cerevisiae*: assembly, structure and function. *Micron* 13, 93-110.
116. KRONEBUSCH, P.J., BORISY, G.G., 1981: Anaphase movement after central spindle disruption in PtK1 cells. *J. Cell Biol.* 91, 319a.
117. KURIYAMA, R., BORISY, G.G., 1981: Microtubule-nucleating activity of centrosomes in Chinese hamster ovary cells is independent of the centriole cycle but coupled to the mitotic cycle. *J. Cell Biol.* 91: 822-826.
118. LA FOUNTAIN, J.R.Jr. 1976: Analysis of birefringence and ultrastructure of spindles in primary spermatocytes of *Nephrotoma saturalis* during anaphase. *J. Ultrastruct. Res.* 54, 333-346.

- 119.LA FOUNTAIN,J.R.Jr., DAVIDSON,L.A., 1979: An analysis of spindle ultrastructure during prometaphase and metaphase of micronuclear division in *Tetrahymena*. *Chromosoma* 75, 293-308.
- 120.LA FOUNTAIN,J.R.Jr., DAVIDSON,L.A., 1980: An analysis of spindle ultrastructure during anaphase of nuclear division in *Tetrahymena*. *Cell Motil.* 1, 41-61.
- 121.LA FOUNTAIN,J.R.Jr., 1982: Chromosome movement during meiotic prophase in crane fly spermatocytes: I. Observations on living cells and the effects of cyanide and cold treatment. *Cell Motil.* 2, 183-195.
- 122.LA FOUNTAIN,J.R., Jr., 1983: Chromosome movement during meiotic prophase in crane fly spermatocytes: II. Analysis of polarization of chromosomes and their association with the nuclear envelope. *Cell Motil.* 3, 261-271.
- 123.LANG,N.J., 1963: An additional ultrastructural component of flagella. *J. Cell Biol.* 19, 631-634.
- 124.LANNERS,H.N., 1980: Pronuclei of *Heliophya orhardi* Mattes during conjugation and their differential association with coated and uncoated microtubules. *J. Cell Sci.* 45, 245-255.
- 125.LEDBETTER,M.C., PORTER,K.R., 1963: A "microtubule" in plant cell fine structure. *J. Cell Biol.* 19, 239-250.
- 126.LEDUC,E.H., BERNHARD,W., 1967: Recent modifications of glycol methacrylate embedding procedure. *J. Ultrastruct. Res.* 19, 196-199.
- 127.LEEDALE,G.F., 1970: Phylogenetic aspects of nuclear cytology in the algae. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 175, 429-453.
- 128.LIN,H.-P.P., AULT,J.G., CHURCH,K., 1981: Meiosis in *Drosophila melanogaster*: I. Chromosome identification and kinetochore microtubule numbers during the first and second meiotic divisions in males. *Chromosoma* 83, 507-521.
- 129.LITTLE,M., PAWELETZ,N., PETZELT,C., PONSTINGL,H., SCHROETER,D., ZIMMERMANN,H.-P., (eds.) 1977: Mitosis, facts and questions. Heidelberg: Springer.
- 130.LITTLE,M., KRAUHS,E., PONSTINGL,H., 1981: Tubulin sequence conservation. *Bio Systems* 14, 239-246.
- 131.LOKHORST,G.M., STAR,W., 1983: Fine structure of mitosis and cytokinesis in *Urospora* (Acrosiphoniales, Chlorophyta). *Protoplasma* 117, 142-153.
- 132.MANDELKOW,E., MANDELKOW,E. M., BORDAS,J., 1983: Structure of tubulin rings studied by x-ray scattering using synchrotron radiation. *J. Mol. Biol.* 167, 179-196.
- 133.MANTON,I., CLARKE,B., GREENWOOD,A.D., 1955: Observations with the electron microscope on biciliate and quadriciliate zoospores in green algae. *J. Exp. Bot.* 6, 126-128.
- 134.MANTON,I., 1964: Observations on the fine structure of the zoospore and young germling of *Stigeoclonium*. *J. Exp. Bot.* 15, 399-411.
- 135.MANTON,I., 1965: Some phyletic implications of flagellar structure in plants. In: *Advances in Botanical Research Vol. II*, pp 1-34, (PRESTON,R.D., ed.). New York: Acad. Press.
- 136.MANTON,I., KOWALLIK,K., VON STOSCH,H.A., 1970: Observations on the fine structure and development of the spindle of mitosis and meiosis in an marine centric diatom (*Lithodesmium undulatum*): IV. The second meiotic division and conclusions. *J. Cell Sci.* 7, 407-443.
- 137.MAR,H., 1980: Radial cortical fibers and pronuclear migration in fertilized and artificially activated eggs of *Lytechinus pictus*. *Dev. Biol.* 78, 1-13.
- 138.MARANO,F., 1976: Etude ultrastructurale de la division chez *Dunaliella*. *J. Microsc. Biol. Cell.* 25, 279-282.
- 139.MARCHANT,H.J., PICKETT-HEAPS,J.D., 1973: Mitosis and cytokinesis in *Coleochaete suctata*. *J. Phycol.* 9, 461-471.

- 140.MARCHANT,H.J., 1974a: Mitosis, cytokinesis and colony formation in the green alga *Sorastrum*. J. Phycol. 10, 107-120.
- 141.MARCHANT,H.J., 1974b: Mitosis, cytokinesis and colony formation in *Pediastrum boryanum*. Ann. Bot. 38, 883-888.
- 142.MARCHANT,H.J., 1977: Colony formation and differentiation in the green alga *Eudorina elegans*. Protoplasma 93, 325-329.
- 143.MARCHANT,H.J., 1979: Microtubular determination of cell shape during colony formation by the alga *Pediastrum*. Protoplasma 98, 1-14.
- 144.MARGULIS,L., 1975: Microtubules and evolution. In: Microtubules and Microtubule Inhibitors (BORGERS,M., DE BRABANDER,M., eds) pp 3-8. Amsterdam: North Holland Publ. Corp.
- 145.MAUPIN-SZAMIER,P., POLLARD,T.D., 1978: Actin filament destruction by osmium tetroxide. J. Cell Biol. 77, 837-852.
- 146.MC DONALD,K.L., PICKETT-HEAPS,J.D., MC INTOSH,J.R., TIPPIT,D.H., 1977: On the mechanism of anaphase spindle elongation in *Diatoma vulgare*. J. Cell Biol. 74, 377-388.
- 147.MC DONALD,K.L., EDWARDS,M.K., MC INTOSH,J.R., 1979: Cross-sectional structure of the central mitotic spindle of *Diatoma vulgare*. (Evidence for a specific interaction between antiparallel microtubules). J. Cell Biol. 83, 443-461.
- 148.MC INTOSH,J.R., HEPLER,P.K., VAN WIE,D.G., 1969: Model for mitosis. Nature 224, 659-663.
- 149.MC INTOSH,J.R., LANDIS,S.C., 1971: The distribution of spindle microtubules in cultured human cells. J. Cell Biol. 49, 468-497.
- 150.MC INTOSH,J.R., CANDE,Z., SNYDER,J., VANDERSLICE,K., 1975: Studies on the mechanisms of mitosis. Ann. N. Y. Acad. Sci. 253, 407-427.
- 151.MC INTOSH,J.R., MC DONALD,K.L., EDWARDS,M.K., ROSS,B.M., 1979: Three-dimensional structure of the central mitotic spindle of *Diatoma vulgare*. J. Cell Biol. 83, 428-442.
- 152.MC INTOSH,J.R., ROOS,U.-P., NEIGHBORS,B., 1980: Three-dimensional structure of the mitotic spindle of *Dictyostelium*. J. Cell Biol. 87, 1820.
- 153.MC KERRACHER,L., GIBBS,S.P., 1982: Cell and nucleomorph division in the alga *Cryptomonas*. Can. J. Bot. 60, 2440-2452.
- 154.MC NEIL,P.A., BERNS,M.W., 1981: Chromosome behavior after laser microirradiation of a single kinetochore in mitotic PtK2 cells. J. Cell Biol. 88, 543-553.
- 155.MEIDEL,U., KIEMAYER,O., 1982: Über die Kern- und Chloroplastenmigration von *Micrasterias denticulata* Breb.: I. Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen der Kernmigration mit Antimikrotubuli-Substanzen. Phytol. 22, 115-135.
- 156.MEINDEL,U., 1983: Cytoskeletal control of nuclear migration and anchoring in developing cells of *Micrasterias denticulata* and the change caused by the anti-microtubular herbicide Amprophos-methyl (AMP). Protoplasma 118, 75-90.
- 157.MELKONIAN,M., 1975: The fine structure of the zoospores of *Fritschella tuberosa* Iyeng. (Chaetophoraceae, Chlorophyceae) with special reference to the flagellar apparatus. Protoplasma 86, 391-404.
- 158.MELKONIAN,M., 1978: Structure and significance of cruciate flagellar root system in green algae: Comparative investigations in species *Chlorosarcinopsis* (Chlorosarcinales). Plant Syst. Evol. 130, 265-292.
- 159.MELKONIAN,M., 1980a: Ultrastructural aspects of basal body associated fibrous structures in green algae: A critical review. Bio Systems 12, 85-104.

160. MELKONIAN, M., 1980b: Flagellar root, mating structure and gametic fusion in the green alga *Ulva lactuca* (Ulvales). *J. Cell Sci.* 46, 149-169.
161. MELKONIAN, M., KRÖGER, K.-H., MARQUARDT, K.-G., 1980: Cell shape and microtubules in zoospores of the green alga *Chlorosarcinopsis gelatinosa* (Chlorosarcinales): Effect of low temperature. *Protoplasma* 104: 283-293.
162. MELKONIAN, M., 1982: Structural and evolutionary aspects of the flagellar apparatus in green algae and land plants. *Taxon* 31, 255-265.
163. MELKONIAN, M., BERNS, B., 1983: Zoospore ultrastructure in the green alga *Tetraselmis israelensis*: An absolute configuration analysis. *Protoplasma* 114, 67-84.
164. MIMS, C.W., 1972: An ultrastructural study of precleavage mitosis in the myxomycete *Arcyria cinerea*. *J. gen. Microbiol.* 71, 53-62.
165. MOENS, P.B., 1979: Kinetochore microtubule numbers of different sized chromosomes. *J. Cell Biol.* 83, 556-561.
166. MOESTRUP, O., 1978: On the phylogentic validity of the flagellar apparatus in green algae and other chlorophyll a and b containing plants. *Bio Systems* 10, 117-144.
167. MOLNAR, K.E., STEWART, K.D., MATTOX, K.R., 1975: Cell division in the filamentous *Pleurastrum* and its comparison with the unicellular *Platymonas* (Chloropyceae). *J. Phycol.* 11, 287-296.
168. MYLES, D.G., HEPLER, P.K., 1982: Shaping of the sperm nucleus in *Marsilea*: A distinction between factors responsible for generation and shape determination. *Dev. Biol.* 90, 238-252.
169. NAKAI, Y., USHIYAMA, R., 1978: Fine structure of shiitake *Lentinus edodes*: VI. Cytoplasmic microtubules in relation to nuclear movement. *Can. J. Bot.* 56, 1206-1211.
170. NEWCOMB, E.H., 1969: Plant microtubules. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 20, 253-285.
171. NICKLAS, R.B., STAEBLY, C.A., 1967: Chromosome micromanipulation: I. The mechanics of chromosome attachment to the spindle. *Chromosoma* 21, 1-16.
172. NICKLAS, R.B., 1971: Mitosis. *Adv. Cell Biol.* 2, 255-294. (PRESCOTT, P.M., GOLDSTEIN, L., MC CONKEY, E., eds.)
173. NICKLAS, R.B., 1975: Chromosome movement: Current models and experiments on living cells. In: *Molecules and Cell Movement* (INOUE, S., STEPHENS, R.E., eds.) pp 97-117. New York: Acad. Press.
174. NICKLAS, R.B., KUBAI, D.F., HAYS, T.S., 1982: Spindle microtubules and their mechanical association after micromanipulation in anaphase. *J. Cell Biol.* 95, 91-104.
175. NILSHAMMER, M.B., WALLIS, B., KYLIN, A., 1972: The effects of calcium deficiency on the ultrastructure of the green alga *Scenedesmus*. *Z. Pflanzenphysiol.* 66, 197-205.
176. OAKLEY, B.R., DODGE, J.D., 1976: The ultrastructure of mitosis in *Chroomonas salina* (Cryptophyceae). *Protoplasma* 88, 241-254.
177. OAKLEY, B.R., HEATH, I.B., 1978: The arrangement of microtubules in serially sectioned spindles of the alga *Cryptomonas*. *J. Cell Sci.* 31, 53-70.
178. OAKLEY, B.R., MORRIS, N.R., 1980: Nuclear movement is β -tubulin dependent in *Aspergillus nidulans*. *Cell* 19, 255-262.
179. O'KELLY, G.J., FLOYD, G.L., 1983: The flagellar apparatus of *Entocladia viridis* motile cells, and the taxonomic position of the resurrected family Ulvellaceae (Ulvales, Chlorophyta). *J. Phycol.* 19, 153-164.
180. OUTKA, D.E., KLUSS, B.C., 1967: Ameba-to-flagellate transformation in *Tetramitus rostratus*: II. Microtubular morphogenesis. *J. Cell Biol.* 35, 323-346.

- 181.PANNESE,E., ARCIDIACONO,G., RIGAMONTI,L., PROCACCI,P., LEDDA,M., 1982: Stability at low temperatures of neuronal microtubules in spinal ganglia and dorsal roots of the lizard. *J. Ultrastruct. Res.* 79, 18-30.
- 182.PAWELETZ,N., RISUENO,M.C., 1982: Transmission electron microscopic studies on the mitotic cycle of nucleolar proteins impregnated with silver. *Chromosoma* 85, 261-273.
- 183.PEARSON,E.C., DAVIES,H.G., 1982: A critical evaluation of Bernhard's EDTA regressive staining technique for RNA. *J. Cell Sci.* 54, 207-240.
- 184.PEPPER,D.A., BRINKLEY,B.R., 1980: Tubulin nucleation and assembly in mitotic cells: Evidence for nucleic acids in kinetochores and centrosomes. *Cell Motil.* 1, 1-15.
- 185.PICKETT-HEAPS,J.D., 1967: Ultrastructure and differentiation in *Chara* sp.: II Mitosis. *Aust. J. Biol. Sci.* 20, 883-894.
- 186.PICKETT-HEAPS,J.D., FOWKE,L.C., 1969: Cell division in *Oedogonium*: I. Mitosis, cytokinesis, and cell elongation. *Aust. J. Cell Biol.* 22, 857-894.
- 187.PICKETT-HEAPS,J.D., FOWKE,L.C., 1970: Cell division in *Oedogonium*: II. Nuclear division in *Oedogonium cardiacum*. *Aust. J. Cell Biol.* 23, 71-92.
- 188.PICKETT-HEAPS,J.D., 1970a: The behavior of the nucleolus during mitosis in plants. *Cytobios* 2, 69-78.
- 189.PICKETT-HEAPS,J.D., 1970b: Mitosis and autospore formation in the green alga *Kirchneriella lunaris*. *Protoplasma* 70, 325-347.
- 190.PICKETT-HEAPS,J.D., 1970c: Some ultrastructural features of *Volvox*, with particular reference to the phenomenon of inversion. *Planta* 90, 174-190.
- 191.PICKETT-HEAPS,J.D., FOWKE,L.C., 1970: Mitosis, cytokinesis, and cell elongation in the desmid, *Closterium littorale*. *J. Phycol.* 6, 189-215.
- 192.PICKETT-HEAPS,J.D., 1971: The autonomy of the centriole: fact or fallacy? *Cytobios* 3, 205-214.
- 193.PICKETT-HEAPS,J.P., 1972a: Variation in mitosis and cytokinesis in plant cells: Its significance in the phylogeny and evolution of ultrastructural systems. *Cytobios* 5, 59-77.
- 194.PICKETT-HEAPS,J.D., 1972b: Cell division in *Tetradon*. *Ann. Bot.* 36, 693-701.
- 195.PICKETT-HEAPS,J.D., 1973a: Cell division in *Bulbochaete*: I. Division utilizing the wall ring. *J. Phycol.* 9, 408-420.
- 196.PICKETT-HEAPS,J.D., 1973b: Cell division and wall structure in *Microspora*. *New Phytol.* 72, 347-355.
- 197.PICKETT-HEAPS,J.D., 1973c: Cell division in *Tetraspora*. *Ann. Bot.* 37, 1017-1025.
- 198.PICKETT-HEAPS,J.D., 1974: The evolution of mitosis and the eukaryotic condition. *Bio Systems* 6, 37-48.
- 199.PICKETT-HEAPS,J.D., WEIK,K.L., 1977: Cell division in *Euglena* and *Phacus*. In: *Mechanisms and control of cell division* (ROST,T.L., GIFFORD,E.M.Jr., eds.) pp 308-336. Stroudsburg: Dowden, Hutchinson & Ross.
- 200.POON,N.H., DAY,A.W., 1976: Somatic nuclear division in the sporidia of *Ustilago violacea*: IV. Microtubules and the spindle pole body. *Can. J. Microbiol.* 22, 507-522.
- 201.PORTER,K.R., 1966: Cytoplasmic microtubules and their functions. In: *Ciba Fdn. Symp.: Principles of Biomolecular Organization* (WOLSTENHOLME,G.E., O'CONNOR,M., eds.) pp 308-356.
- 202.POWELL,M.J., 1980: Mitosis in the aquatic fungus *Rhizophyidum sphaerotheca* (Chytridiales). *Am. J. Bot.* 67, 839-853.

203. RATTNER, J.B., BERNIS, M.W., 1976: Distribution of microtubules during centriole separation in rat kangaroo (*Potorous*) cells. *Cytobios* 15, 37-43.
204. RAUDASKOSKI, M., 1972: Occurrence of microtubules in the hyphae of *Schizophyllum commune* during intracellular nuclear migration. *Arch. Mikrobiol.* 86, 91-100.
205. RAUDASKOSKI, M., KOLTIN, Y., 1973: Ultrastructural aspects of a mutant of *Schizophyllum commune* with continuous nuclear migration. *J. Bacteriol.* 116, 981-988.
206. REICHELE, R.E., 1969: Fine structure of *Phytophthora parasitica* zoospores. *Mycologia* 61, 30-51.
207. RICKARDS, G.K., 1975: Prophase movements in living house cricket spermatocytes and their relationship to prometaphase, anaphase, and granule movement. *Chromosoma* 49, 407-455.
208. RIEDER, C.L., 1979: Ribonucleoprotein staining of centrioles and kinetochores in newt lung cell spindles. *J. Cell Biol.* 80, 1-9.
209. RIEDER, C.L., 1982: The formation, structure, and composition of the mammalian kinetochore and kinetochore fiber. *Int. Rev. Cytol.* 79, 1-53. (BOURNE, G.H., DANIELLI, J.F. eds.) New York: Acad Press.
210. RINGO, D.L., 1967: Flagellar motion and fine structure of the flagellar apparatus in *Chlamydomonas*. *J. Cell Biol.* 33, 543-571.
211. ROBBINS, E., JENTSCH, G., MICALI, A., 1968: The centriole cycle in synchronized HeLa cells. *J. Cell Biol.* 36, 329-339.
212. ROBERTS, K., HYAMS, J.S., 1979: Microtubules. London: Academic Press.
213. ROBERTS, K.R., SLUIMAN, H.J., STEWART, K.D., MATTOX, K.R., 1981: Comparative cytology and taxonomy of the Ulvophyceae: III. The flagellar apparatus of the anisogametes of *Derbesia tenuissima* (Chlorophyta). *J. Phycol.* 17, 330-340.
214. ROBERTS, K.R., STEWART, K.D., MATTOX, K.R., 1982: Structure of the anisogametes of the green siphon *Pseudebryopsis* sp. (Chlorophyta). *J. Phycol.* 18, 498-508.
215. ROOS, U.-P., 1975: Fine structure of an organelle associated with the nucleus and cytoplasmic microtubules in the cellular slime mould *Polyspondylium violaceum*. *J. Cell Sci.* 18, 315-326.
216. ROOS, U.-P., 1981: Quantitative structure analysis of the mitotic spindle. In: *International Cell Biology* (SCHWEIGER, H.G. ed.) pp 369-381. Heidelberg: Springer.
217. RUTHMANN, A., 1966: *Methoden der Zellforschung*. Stuttgart: Franckh
218. RYSER, M., 1970: Die Ultrastruktur der Mitosekerne in den Plasmodien von *Pyricularia*. *Z. Zellforsch.* 110, 108-130.
219. SABATINI, D.D., BENSCH, K., BARNETT, R.J., 1963: Cytochemistry and electron microscopy. The preservation of cellular ultra-structure and enzymatic activity by aldehyde fixation. *J. Cell Biol.* 17, 19-58.
220. SALISBURY, J.L., SWANSON, J.A., FLOYD, G.L., HALL, R., MAHLE, N.J., 1981: Ultrastructure of the flagellar apparatus of the green alga *Tetraselmis-subcordiformis* - with special consideration given to functions of the rhizoplast and rhizanchora. *Protoplasma* 107, 1-11.
221. SATIR, P., SATIR, B., 1964: A model for ninefold symmetry in α -keratin and cilia. *J. Theor. Biol.* 7, 123-128.
223. SATIR, P., WAIS-STÄIDER, J., LEBDUSKA, S., NASR, A., AVOLIO, J., 1981: The mechanochemical cycle of the dynein arm. *Cell Motil.* 1, 303-327.

224. SCHATTEN, G., SCHATTEN, H., 1981: Effects of motility inhibitors during sea urchin fertilization. Microfilament inhibitors prevent sperm incorporation and restructuring of fertilized egg cortex, whereas microtubule inhibitors prevent the pronuclear migration. *Exp. Cell Res.* 135, 311-330.
225. SCHATTEN, G., 1982: Motility during fertilization. *Int. Rev. Cytol.* 79, 59-163. (BOURNE, G.H., DANIELLI, J.F., eds.) New York: Acad. Press.
226. SCHATTEN, G., SCHATTEN, H., BESTOR, T.H., 1982: Taxol inhibits the nuclear movements during fertilization and induces asters in unfertilized sea urchin eggs. *J. Cell Biol.* 94, 455-465.
227. SCHLÖSSER, U.G., 1982: Sammlung von Algenkulturen (Origin and function of the culture collection). *Ber. Deutsch. Bot. Ges.* 95, 181-276.
228. SCHMIEDEL, G., SCHNEPF, E., 1979: Side branch formation and orientation of the caulonema of the moss *Funaria hygrometrica*: Normal development and fine structure. *Protoplasma* 100, 367-389.
229. SCHMIEDEL, G., REISS, H.D., SCHNEPF, E., 1981: Association between membranes and microtubules during mitosis and cytokinesis in caulonema tip cells of the moss *Funaria hygrometrica*. *Protoplasma* 108, 173-190.
230. SCHNEPF, E., 1973: Mikrotubulus- Anordnung und -Umordnung, Wandbildung und Zellmorphogenese in jungen *Sphagnum* Blättern. *Protoplasma* 78, 145-173.
231. SCHNEPF, E., RÖDERER, G., HERTH, W., 1977: The flagellar root apparatus, the microtubular system and associated organelles in the chrysophycean flagellate *Poterioochromonas malhamensis* Peterfi (syn. *Poterioochromonas stipitata* Scherffel and *Ochromonas malhamensis* Pringsheim). *Protoplasma* 92, 87-107.
232. SCHNEPF, E., HEINZMANN, J., 1980: Nuclear movement, tip growth and colchicine effects in *Lagenisma coscinodisci* Drebes (Oomycetes, Lagenidiales). *Biochem. Physiol. Pflanzen* 175, 67-76.
233. SCHÖTZ, F., BATHELT, H., ARNOLD, C.-G., SCHIMMER, O., 1972: Die Architektur und Organisation der *Chlamydomonas* Zelle. Ergebnisse der Elektronenmikroskopie von Serienschritten und der daraus resultierenden dreidimensionalen Rekonstruktionen. *Protoplasma* 75, 229-254.
234. SCHRADER, F., 1953: Mitosis, the movement of chromosomes in cell division. (DUNN, L.C. ed.) New York: Columbia Univ. Press.
235. SCHULZ, D., JAROSCH, R., 1980: Rotating microtubules as a basis for anaphase spindle elongation in diatoms. *Eur. J. Cell Biol.* 20, 249-253.
236. SCHUSTER, F.L., 1965: Ultrastructure and morphogenesis of solitary stages of true slime molds. *Protistologica* 1, 62-72.
237. SIMIONESCU, N., SIMIONESCU, M., 1976: Galloylglucoses of low molecular weight as mordants in electron microscopy: I. Procedure and evidence for mordanting effect. *J. Cell Biol.* 70: 608-621.
238. SLAUTTERBACK, D.B., 1963: Cytoplasmic microtubules: I *Hydra*. *J. Cell Biol.* 18, 367-388.
239. SLUIMAN, H.J., ROBERTS, K.R., STEWART, K.D., MATTOX, K.R., 1980: Comparative cytology and taxonomy of the Ulvophyceae: I. Zoospore of *Ulothrix zonata* (Chlorophyta). *J. Phycol.* 16, 537-545.
240. SLUIMAN, H.J., ROBERTS, K.R., STEWART, K.D., MATTOX, K.R., LOKHORST, G.M., 1982: The flagellar apparatus of the zoospore of *Urospora penicilliformis* (Chlorophyta). *J. Phycol.* 18, 1-12.

- 241.SLUIMAN,H.J., 1983: The flagellar apparatus of the zoospore of the filamentous green alga *Coleochaete pulvinata*: Absolute configuration and phylogentic significance. *Protoplasma* 115, 160-175.
- 242.SOLARI,A.J., 1980: The 3-dimensional fine structure of the mitotic spindle in *Trypanosoma cruzi*. *Chromosoma* 78, 239-255.
- 243.SPURR,A.R., 1969: A low-viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. *J. Ultrastruct. Res.* 26, 31-43.
- 244.STEARN,S.M.E., BROWN,D.L., 1978: Microtubule initiating proteins compose rootlet MTOCs of *Polytomella*. In: Ninth Int. Congr. Electron Microsc. Vol. II pp 270-271 (STURGESS,J.M., ed.). Toronto: Microsc. Soc. Canada.
- 245.STEARN,S.M.E., BROWN,D.L., 1981: Microtubule organizing centers (MTOCs) of the alga *Polytomella* exert spatial control over microtubule initiation in vivo and in vitro. *J. Ultrastruct. Res.* 77, 366-378.
- 246.STEFFEN,W., FUGE,H., 1982: Dynamic changes in autosomal spindle fibers during prometaphase in crane fly spermatocytes. *Chromosoma* 87, 363-371.
- 247.STEVENSON,L., 1972: Ultrastructure of nuclear division in *Paramecium aurelia*: III. Meiosis in the micronucleus during conjugation. *Aust. J. Biol. Sci.* 25, 775-799.
- 248.STEWART,K.D., MATTOX,K.R., CHANDLER,C.D., 1974: Mitosis and cytokinesis in *Platymonas subcordiformis*, a scaly green monad. *J. Phycol.* 10, 65-80.
- 249.STUBBLEFIELD,E., BRINKLEY,B.R., 1967: Architecture and function of the mammalian centriole. In: Symp. Int. Soc. Cell Biol. Vol.6 (WARREN,K.B. ed.) pp 175-218. New York: Acad. Press.
- 250.SYKES,E.E., PORTER,D., 1981: Meiosis in the aquatic fungus *Catenaria allomyces*. *Protoplasma* 105, 307-320.
- 251.TAYLOR,F.J.R., 1976: Flagellate phylogeny: A study in conflicts. *J. Protozool.* 23, 28-40.
- 252.TIPPIT,D.H., MC DONALD,K.L., PICKETT-HEAPS,J.D., 1974: Cell division in the acentric diatom *Melosira varians*. *Cytobiologie* 12, 271-296.
- 253.TIPPIT,D.H., PICKETT-HEAPS,J.D., 1977: Mitosis in the pennate diatom *Suriella ovalis*. *J. Cell Biol.* 73, 705-727.
- 254.TIPPIT,D.H., SCHULZ,D., PICKETT-HEAPS,J.D., 1978: Analysis of the distribution of spindle microtubules in the diatom *Fragillaria*. *J. Cell Biol.* 79, 737-763.
- 255.TIPPIT,D.H., PILLUS,L., PICKETT-HEAPS,J., 1980: Organization of spindle microtubules in *Ochromonas danica*. *J. Cell Biol.* 87, 531-545.
- 256.TIPPIT,D.H., PILLUS,L., PICKETT-HEAPS,J.D., 1983: Near neighbor analysis of spindle microtubules in the alga *Ochromonas*. *Eur. J. Cell Biol.* 30, 9-17.
- 257.TILNEY,L.G., 1968: The assembly of microtubules and their role in the development of cell form. In: The emergence of order in developing systems. 27th Symp. Soc. Dev. Biol. Suppl.2, 63-102.
- 258.TRIEMER,R.E., BROWN,R.M.Jr., 1974: Cell division in *Chlamydomonas moewusii*. *J. Phycol.* 10, 419-433.
- 259.TRIEMER,R.E., BROWN,R.M.Jr., 1975: Fertilization in *Chlamydomonas reinhardtii* with special reference to the structure, development, and fate of the choanoid body. *Protoplasma* 85, 99-107.
- 260.VAN DEN HOEK,C., 1981: Chlorophyta: Morphology and Classification. Bot. Monographs 17, 85-132. The Biology of Seaweeds (LOBBAN,C.S., WYNNE,M.J., eds.). Oxford: Blackwell Scientific Publications.
- 261.VENABLES,J.H., COGGESHALL,R., 1965: A simplified lead citrate stain for use in electron microscopy. *J. Cell Biol.* 25, 407-408.

262. VOGELMANN, T.C., BASSEL, A.R., MILLER, J.H., 1981: Effects of microtubule-inhibitors on nuclear migration and rhizoid differentiation in germinating fern spores (*Onoclea sensibilis*). *Protoplasma* 109, 295-316.
263. VON DENFFER, D., ZIEGLER, H., EHRENDORFER, F., BRESINSKY, A., (Hrsg.) 1983: *Lehrbuch der Botanik*. Stuttgart: Fischer
264. VOROBJEW, I.A., CHENTSOV, Y.S., 1983: The dynamics of reconstitution of microtubules around the cell center after cooling. *Eur. J. Cell Biol.* 30, 149-153.
265. WARR, J.R., 1974: Genetic approaches to the study of microtubule structure and function. *Sub-cell. Biochem.* 3, 149-154.
266. WATSON, M.W., 1975: Flagellar apparatus, eyespot and behavior of *Microthamnion kuetzingianum* (Chlorophyceae) zoospores. *J. Phycol.* 11, 439-448.
267. WEBER, K., OSBORN, M., FRANKE, W.W., SEIB, E., SCHEER, U., HERTH, W., 1977: Identification of microtubular structures in diverse plant and animal cells by immunological cross-reaction revealed in immunofluorescence microscopy using antibody against tubulin from porcine brain. *Cytobiologie* 15, 285-302.
268. WEIBEL, E.R., ELIAS, H., 1967: Introduction to stereologic principles. In: *Quantitative Methods in Morphology* (WEIBEL, E.R., ELIAS, H., eds.) pp 89-98. Berlin-Heidelberg-New York: Springer.
269. WEIBEL, E.R., 1969: Stereological principles for morphometry in electron microscopic cytology. *Int. Rev. Cytol.* 26, 235-302. (BOURNE, G.H., DANIELLI, J.F., eds.). New York: Academic Press.
270. WHEATLEY, D.N., 1982: Centriole: A central enigma of cell biology. Amsterdam: Elsevier Biomed. Press.
271. WICK, S.M., SEAGULL, R.W., OSBORN, M., WEBER, K., GUNNING, B.E.S., 1981: Immunofluorescence microscopy of organized microtubule arrays in structurally stabilized meristematic plant cells. *J. Cell Biol.* 89, 685-690.
272. WILSON, H.J., WANKA, F., LINSKENS, H.F., 1973: The relationship between centrioles, microtubules and cell plate in *Chlorella pyrenoides*. *Planta* 109, 259-267.
273. WILSON, L., BAMBURG, J.R., MIZEL, S.B., GRISHAM, L.M., CRESWELL, K.M. 1974: Interaction of drugs with microtubule proteins. *Fedn. Proc.* 33, 158-166.
274. WOLF, K., 1979: Der Einsatz des Platin Pyrimidin-Komplexes zur elektronenmikroskopischen Darstellung von Geißelstrukturen bei *Polytoma papillatum* vor und nach der Anwendung der DNA-spezifischen Feulgen-Färbung. Erlangen: Staatsexamensarbeit.
275. WOODCOCK, L.F., 1971: The anchoring of nuclei by cytoplasmic microtubules in *Acetabularia*. *J. Cell Sci.* 8, 611-621.
276. ZELIGS, J.D., WOLLMAN, S.H., 1979: Mitosis in rat thyroid epithelial cells in vivo: II. Centrioles and pericentriolar material. *J. Ultrastruct. Res.* 66, 97-108.
277. ZIMMERMANN, A.M., FORER, A., (eds.) 1981: *Mitosis and Cytokinesis. Cell Biology: A Series of Monographs*. New York: Acad. Press.

Z w e i t e r T e i l : Anhang mit elektronenmikroskopischen
Aufnahmen

Die Figuren 1-22 und 76 stammen aus der Präparation A (siehe Material und Methoden im ersten Teil). Die Figuren 25,26 und 37-75 entstammen der Präparation B.

Wenn in einer Figur (Fig.) mehrere Folgeschnitte wiedergegeben sind, dann trägt nur das jeweils erste Bild die Angabe über den Abbildungsmaßstab, der auch für die folgenden Aufnahmen gültig ist.

Fig.1: Medianer Längsschnitt durch eine junge Interphasezelle . Der Protoplast liegt der Zellwand (Z) weitgehend an. Der Hauptteil des endoplasmatischen Retikulums (ER) ist an der Innenseite des Leukoplasten (L) lokalisiert. Golgi-Apparate (G) befinden sich bevorzugt ober- und unterhalb des Zellkerns (K), der kaum Chromatinbestandteile erkennen läßt. Auffällig ist dagegen der Nukleolus (N) mit seinen beiden Komponenten pars fibrosa (f) und pars granulosa (g). Die Bedeutung des an der Peripherie des Nukleolus sitzenden Körpers (Pfeil) ist unbekannt. Mitochondrienanschnitt (M), kontraktile Vakuole (V), Flagellum (F), Papille (P).

Fig.2a-c: Drei aufeinanderfolgende etwa senkrecht zur Längsachse einer Interphasezelle orientierte Querschnitte durch den apikalen Pol von außen (a) nach innen (c). Die "Verknüpfung" der flagellentragenden Basalkörper (fB) durch die sogenannte "striated connexion" (sc), die kreuzweise Organisation der Wurzelfasern (W_1 und W_2) und ihre Beziehung zu den Basalkörpern werden deutlich. Zusätzliche Basalkörper (zB), Flagellum (F).

Fig.3a-c: Querschnittserie durch einen zusätzlichen Basalkörper (zB) einer Interphasezelle. Der Basalkörper enthält die sogenannte Wagenradstruktur und ist in amorphes Material eingebettet. Seine Lage zur kleinen Wurzelfaser (W_1) wird deutlich. Große Wurzelfaser (W_2).



Fig. 1

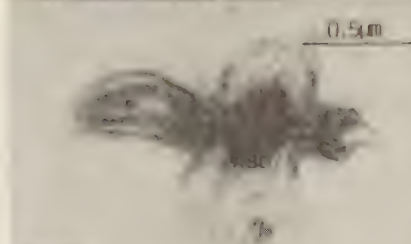


Fig. 2a

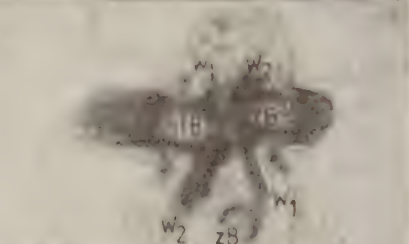


Fig. 2b

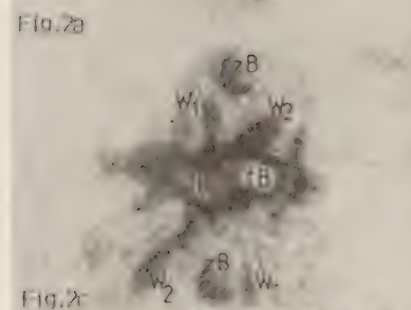


Fig. 2c

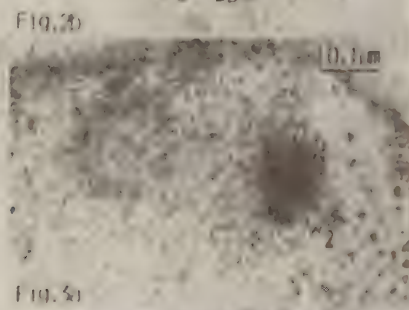


Fig. 2d

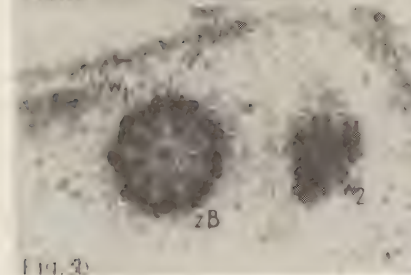


Fig. 2e



Fig. 2f

Fig.4: Längsschnitt durch den apikalen Pol einer Interphasezelle. Der Pfeil weist auf die quergeschnittene kleine Wurzelfaser. "striated connexion" (sc), Papille (P), flagellentrager Basalkörper (fB).

Fig.5a-c: Schnittserie durch den apikalen Pol einer Interphasezelle parallel zur kleinen Wurzelfaser (W_1). Pfeile weisen auf Fortsätze von den Basalkörpern. Doppelpfeile: Konglomerate aus amorphem Material.

Fig.6a-c: Schnittserie durch den apikalen Pol einer Interphasezelle. Ein flagellentrager Basalkörper (fB_1) ist etwa senkrecht zu seiner Längsachse angeschnitten, der zweite (fB_2) ist schräg getroffen. Zwischen den proximalen Enden der beiden Basalkörper befindet sich eine quergestreifte Struktur mit der Form eines spitzen Dreiecks. "striated connexion" (sc)

Fig.7: Längsschnitt durch den apikalen Pol einer Interphasezelle. Der Pfeil weist auf die quergeschnittene große Wurzelfaser, deren Mikrotubuli in einer 4 über 1 Anordnung vorliegen. Papille (P), flagellentrager Basalkörper (fB).

Fig.8: Querschnitt durch die große Wurzelfaser (W_2) einer Interphasezelle seitlich von der Papille. 5 Mikrotubuli liegen nebeneinander. Zellmembran (Zm).

Fig.9: Längsschnitt durch den apikalen Pol einer Interphasezelle. Der Pfeil weist auf eine quergeschnittene Wurzelfaser, die aus 3 Mikrotubuli besteht. Papille (P), flagellentrager Basalkörper (fB).

Fig.10: Schnitt durch den apikalen Pol einer Interphasezelle. Ein flagellentrager Basalkörper (fB_1) ist längs, einer (fB_2) schräg getroffen. Corticale Mikrotubuli (Mt) laufen sowohl auf die Basalkörper als auch auf die große Wurzelfaser (W_2) zu. Kleine Wurzelfaser (W_1).

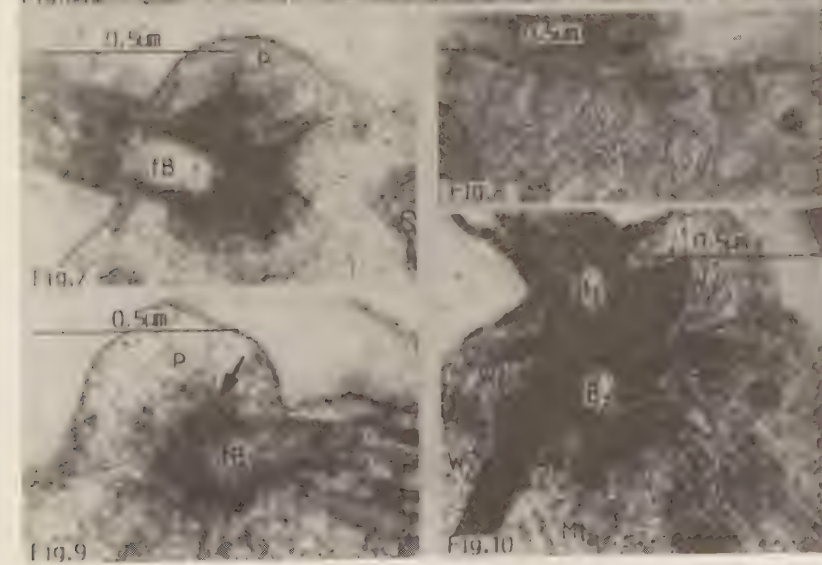
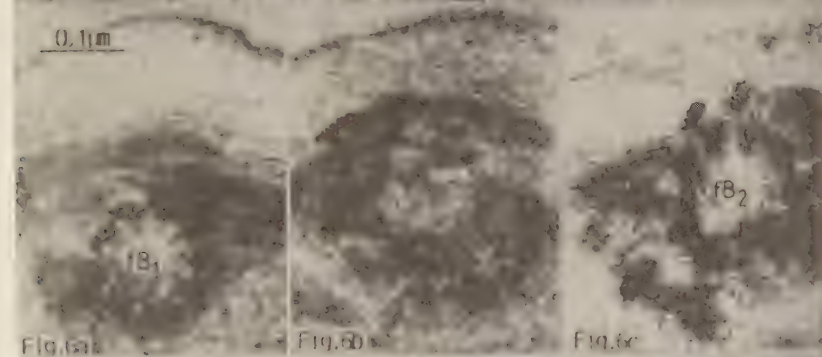
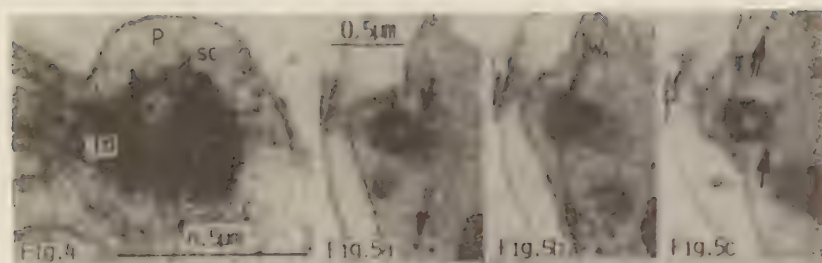


Fig.11a,b: Zwei aufeinanderfolgende etwa senkrecht zur Längsachse einer Interphasezelle orientierte Querschnitte aus der Region unterhalb des Basalkörperkomplexes. Pfeile weisen auf Ansammlungen amorphen Materials, an dem Mikrotubuli entspringen. Doppelpfeile: Konglomerate aus amorphem Material.

Fig.12: Querschnitt einer Interphasezelle auf der Höhe des Zellkerns (K). Pfeile markieren zentrale Einzelmikrotubuli, Doppelpfeile weisen auf Mikrotubuliaggregate. Der Nukleolus (N) besitzt einen dunkler kontrastierten Trabanten (T) unbekannter Natur. Kernmembran (Km).

Inset: Querschnitt durch ein Mikrotubuliaggregat an der Kernmembran (Km)

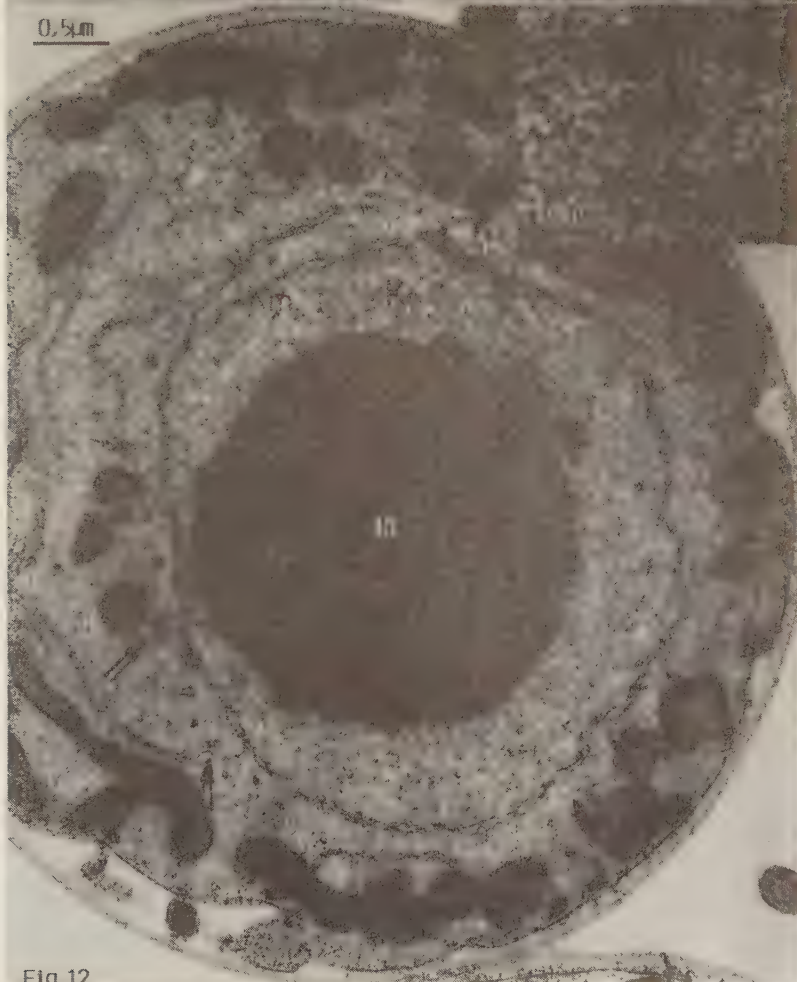
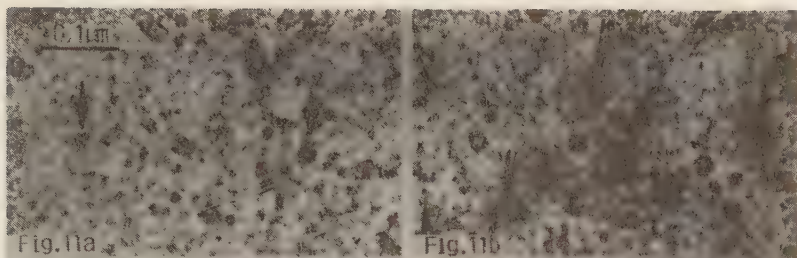


Fig.12

Fig.13: Leicht schräg verlaufender Längsschnitt durch eine in Abrundung begriffene Preprophazelle. Obgleich sich der Zellkern (K) dem apikalen Pol nur wenig genähert hat, ist bereits das Querschnittsprofil einer tiefen Invagination (Pfeil) im Kern sichtbar. Neben dem Nukleolus (N) enthält der Kern noch einen sphärischen Körper (Doppelpfeil) unbekannten Ursprungs. Der Protoplast hat sich offensichtlich in Folge einer Volumeneinbuße an mehreren Stellen von der Zellwand (Z) abgehoben. Kernmembran (Km).

Fig.14 und 15: Längsschnitte durch den apikalen Pol von Preprophazellen. Die kontrastreichen Lagen in der geschichteten Struktur unterhalb der Basalkörper (fB) sind entsprechend ihrem Muster markiert. Viele Mikrotubuli (Mt) sind auf diese Struktur fokussiert. Die Schichtung wird gelegentlich von Ansammlungen kontrastreichen Materials (Pfeil in Fig.15) unterbrochen. Konglomerate amophen Materials (Doppelpfeile) treten unterhalb der geschichteten Struktur in Erscheinung. Papille (P).

Fig.16: Längsschnitt durch den apikalen Pol einer Preprophazelle. Neben der großen Wurzelfaser (W_2) umgibt ein Kranz dichten kontrastierten Materials einen zentralen Kern (Pfeil). Konglomerate amorphen Materials (Doppelpfeile) liegen unterhalb des Basalkörperkomplexes im stark von Mikrotubuli (Mt) durchsetzten Cytoplasma.

Fig.17: Längsschnitt durch eines der nahe der Kernoberfläche (Km) verlaufenden Mikrotubuliaggregate (Mt) in einer Preprophazelle.

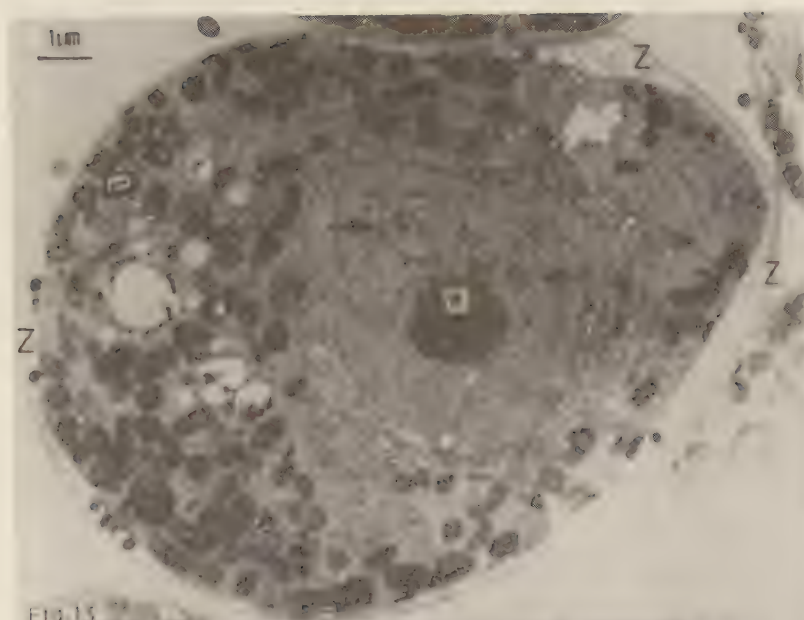


Fig. 13



Fig. 14



Fig. 16

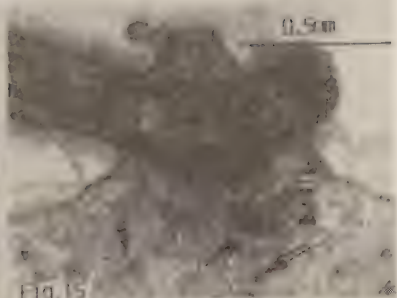


Fig. 15

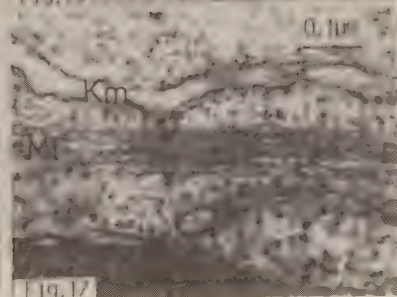


Fig. 17

Fig.18: Längsschnitt durch den apikalen Pol einer späten Preprophasezelle. Pfeil weist auf kompakten unregelmäßigen Körper. Doppelpfeil: vermutlich Mikrotubulifragment im Basalkörperkomplex. Flagellentragender Basalkörper (fB), große Wurzelfaser (W_2), Kernmembran (Km), zusätzlicher Basalkörper (zB).

Fig.19: Querschnitt durch die große Wurzelfaser (W_2) unterhalb der Plasmamembran (Pm) einer Preprophasezelle. Darunter finden sich Mikrotubulianschnitte. Kernmembran (Km).

Fig.20: Querschnitt durch das Zentrum einer jungen Zygote. Zwischen den noch nicht fusionierten Zellkernen (K) befinden sich Bündel von Mikrotubuli (Pfeile). Nukleolus (N).

Fig.21 und 22: Normale (21) und abnorme (22) Konfiguration von Geißelquerschnitten. Abgesehen von der etwa doppelten Querschnittfläche der abnormen Geißel, enthält diese auch den doppelten Satz tubulärer Elemente. Letztere sind so angeordnet, als hätte eine Fusion zweier "Neunerstrukturen" unter gleichzeitiger Ausgliederung zweier Doppeltubuli stattgefunden.

Fig.23 und 24: Längsschnitte durch den apikalen Pol von Interphase- oder frühen Preprophasezellen. Kontrastiert wurde in beiden Fällen nach der Methode von Bernard (1969). Fig.24 stammt von einem Schnitt, der vor der Kontrastierung mit Ribonuklease behandelt worden war. Flagellentragende Basalkörper (fB).

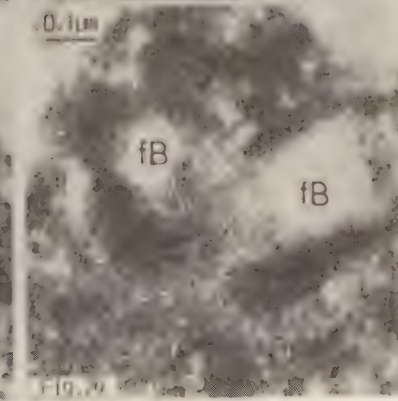
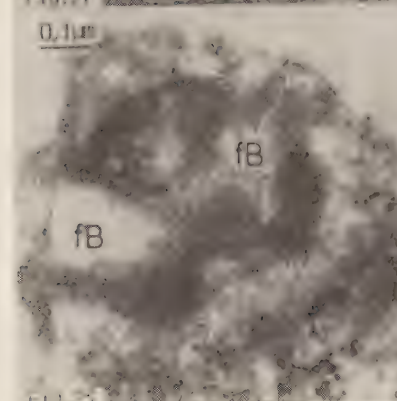
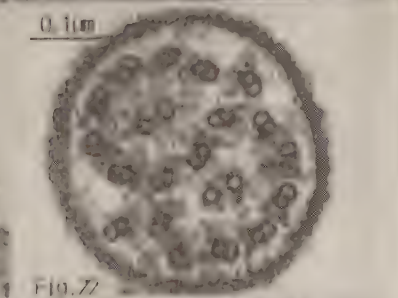
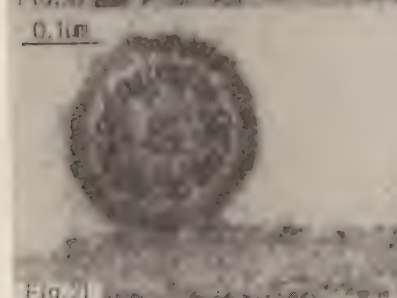
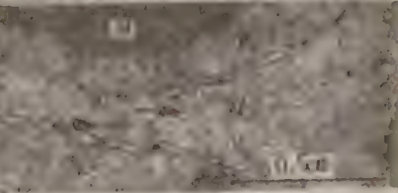
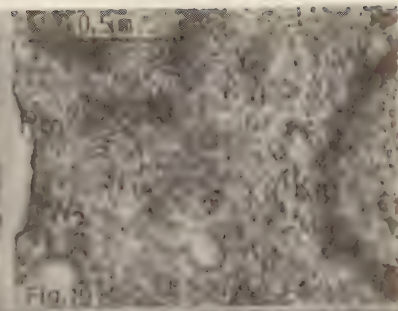


Fig.25: Schnitt durch ein von der mütterlichen Zellwand (Z) umgebenes Sporangium während der Metaphase des dritten Teilungszyklus. Von den insgesamt 4 aus der zweiten Teilung resultierenden Teilungsprodukten sind nur 3 im Schnitt getroffen (I-III). Der vierte Teil liegt parallel zu und unterhalb von III. Die Kerne von I und II sind beinahe quer, der von III beinahe längs geschnitten. Die zwischen I und II noch existierende cytoplasmatische Brücke (Pfeil) ist im **Inset** stärker vergrößert dargestellt. Man beachte die Modifikation der Plasmamembran (Pm) im Bereich der Brücke. Zellkern (K).

Fig.26: In diesem Anschnitt eines von der mütterlichen Zellwand (Z) umgebenen Sporangiums während der frühen Prophase des dritten Teilungszyklus ist eines der 4 Produkte des zweiten Teilungszyklus getroffen. Man beachte die Parallelität der Wulstbildung von Kern (K, Pfeil 1) und Zelle (Pfeil 2). Der Zerfall des Nukleolus und/oder die Gestaltung der Chromosomen werden am "fleckigen" Erscheinungsbild des Bereichs innerhalb der Kernmembran (Km) deutlich.

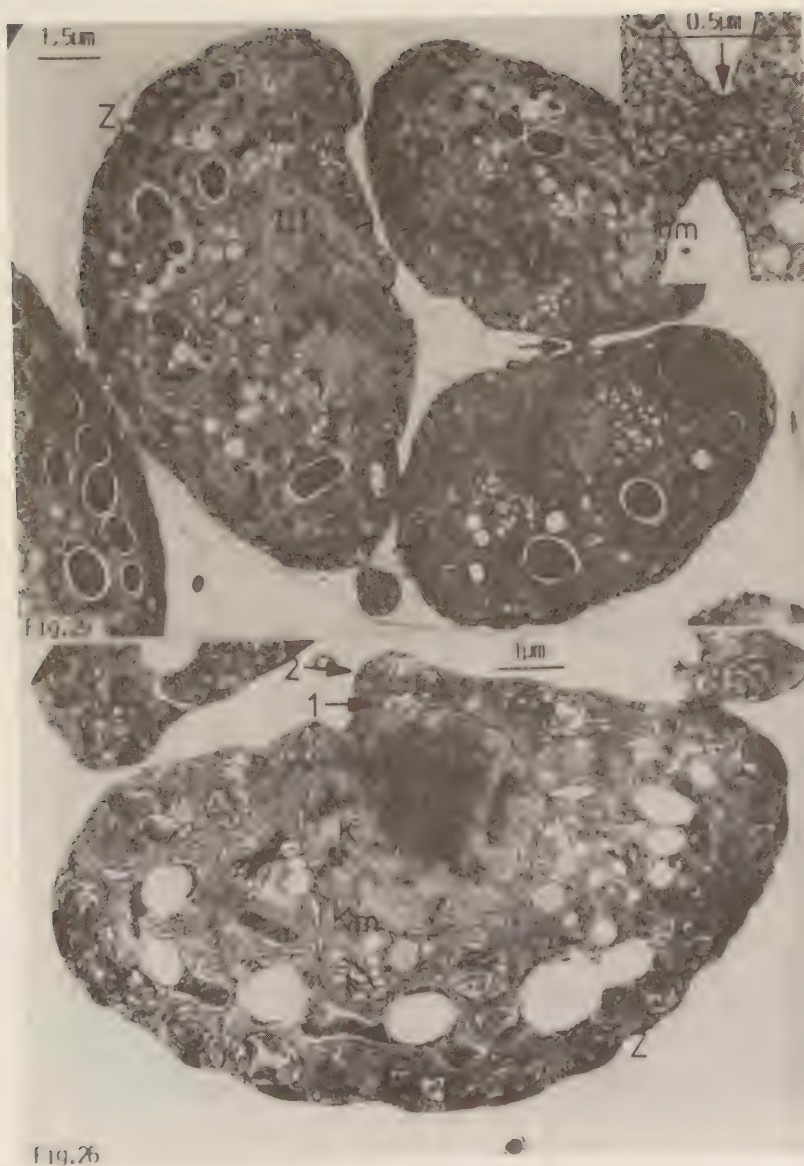


Fig.27: Modell einer Prophasezelle aus dem dritten Teilungszyklus in Aufsicht auf die papillenartigen Vorsprünge (Pfeile), die die Flagellensrümpfe über den Basalkörnern repräsentieren. Der Verlauf der Wurzelfasern ist durch die bogenförmigen Linien markiert.

Fig.28: Modell einer frühen Telophasezelle aus dem dritten Teilungszyklus in Aufsicht auf die papillenartigen Vorsprünge, die die Flagellensrümpfe über den Basalkörnern darstellen. Ein deutlicher Cytokinespalat furcht die Zelloberfläche schräg zu einer gedachten Linie zwischen den Basalkörnern (Pfeile). Der Verlauf der Wurzelfasern ist durch die bogenförmigen Linien markiert.

Fig.29: Modell einer späten Telophasezelle aus dem dritten Teilungszyklus in Aufsicht auf den im Vergleich zur Fig.28 vertieften Cytokinespalat.

Fig.30: Modell einer der 8 zellwandlosen Tochterzellen eines Sporangiums nach Abschluß der dritten Teilung in Seitenansicht. Zu diesem Zeitpunkt haben die Zellen bereits die typische Form der Interphasezellen erreicht. Am apikalen Pol sind die Flagellenansätze zu erkennen (Pfeile).



Fig.31-36: Längsansichten einiger Modelle von Zellkernen während der Mitose. Um die einzelnen in der absoluten Größe variierenden Modelle direkt miteinander vergleichen zu können, wurde ihre Bildgröße normiert, indem ihre Standardlängen unter Verwendung der bekannten Kern/Zell-Volumenrelationen und unter Festlegung eines Zellvolumens von $1000 \mu\text{m}^3$ rechnerisch abgeschätzt wurden. Lücken in der Kernmembran wie z.B. polare Fenster sind in diesen Modellen nicht dargestellt.

Frühe Prophase (Fig.31), späte Prophase (Fig.32), Metaphase (Fig.33), Anaphase (Fig.34), Telophase mit zigarrenförmigem Kern (Fig.35), Telophase mit hantelförmigem Kern (Fig.36).



Fig.37a-c: Stufenserie durch einen quergeschnittenen Basalkörper einer frühen Prophasezelle im 3. Teilungszyklus. Jeweils ein Schnitt vor, zwischen und nach den hier abgebildeten Schnitten wurde ausgespart. Das basale Drittel des Basalkörperkomplexes enthält die Wagenradstruktur (a). Dort wo die Triplets in Dupletts übergehen, strahlen die sogenannten Übergangsfasern in das Cytoplasma (b), und im apikalen Teil der gerade auszuwachsen beginnenden Geißel setzt sich die "Neunerstruktur" sowohl aus Doppel- als auch aus Einfachtubuli zusammen. Innerhalb der "Neunerstruktur" ist äußerst schwach die "sternförmige Struktur" - ein Charakteristikum der Übergangsregion zwischen Basalkörper und Geißel - zu erkennen (c).

Fig.38a-h: Längsschnittserie durch einen Basalkörperkomplex einer späten Prophasezelle (a-g), aus der der Verlauf und die Ansatzstelle (d) der großen Wurzelfaser (W_2) am linken Basalkörper (B_l), die zum rechten Basalkörper (B_r) etwa rechtwinklige Lage des Probasalkörpers (Pb) und die Existenz einer aus zwei ca. 200nm langen Mikrotubuli bestehenden, offensichtlich in Bildung begriffenen Wurzelfaser (W), hervorgehen. Der Aufbau des Probasalkörpers einer frühen Prophasezelle ist in dem Querschnitt h, der aus einer anderen Zelle stammt, besser als in d dargestellt.

Fig.39: Querschnitt durch die beiden auf Höhe der Äquatorialebene des Prophasekerns parallel verlaufenden Wurzelfasern, zwischen denen die Plasmamembran (Pm) rinnenförmig (im Querschnitt V-förmig) eingebuchtet ist (Pfeil).

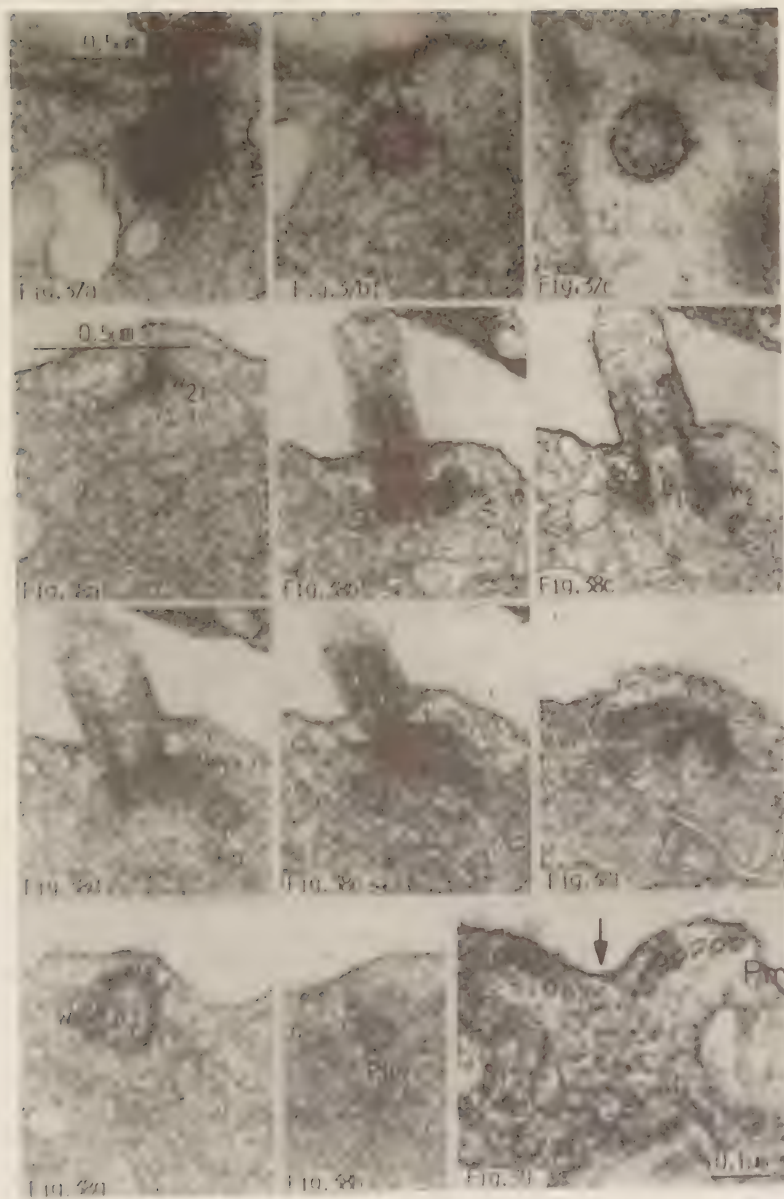


Fig.40: Etwas schräger Längsschnitt durch einen frühen Prophasekern. Während der Schnitt mitten durch den einen Basalkörperkomplex läuft, ist von seinem Gegenüber nur die Randzone angeschnitten. Die Pfeile grenzen das amorphe Material ein, das unterhalb der künftigen flagellentragenden Basalkörper (fB) der an dieser Stelle modifizierten Kernmembran (Km) aufliegt.

Fig.41: Querschnitt durch den Basalkörperkomplex einer frühen Prophasezelle. Im Lumen des einen Basalkörpers (B) befinden sich Mikrotubulianschnitte (Pfeil).

Fig.42: Dieser Anschnitt aus der Zone des Kernpols einer frühen Prophasezelle zeigt cytoplasmatische Mikrotubuli in dem von der Invagination der Kernmembran (Km) gebildeten Lumen. Auf die Existenz von Membrananschnitten (Pfeil) unbekannter Herkunft (Einzelschnitt!) über der Invagination wird hingewiesen. Schräg getroffener Basalkörper (B).

Fig.43: Schrägschnitt durch die polare Region eines Prophasekerns. Innerhalb des allseitig von der Kernmembran (Km) umschlossenen Kernprofils befinden sich Spindelmikrotubuli und Anschnitte von Doppelmembranen (Pfeil).

Fig.44: Dieser aus einer Serie ausgewählte Schnitt durch den Kernpol einer frühen Prophasezelle ist repräsentativ für den aus der Serie gewonnenen Befund einer allem Anschein nach geschlossenen Kernmembran (Km). An dem dichten Material, das der inneren Kernmembran anliegt, inserieren intranukleäre Mikrotubuli. Cytoplasmatische Mikrotubuli sind bis in den Raum zwischen Kernpol und Basalkörper (B) zu verfolgen.

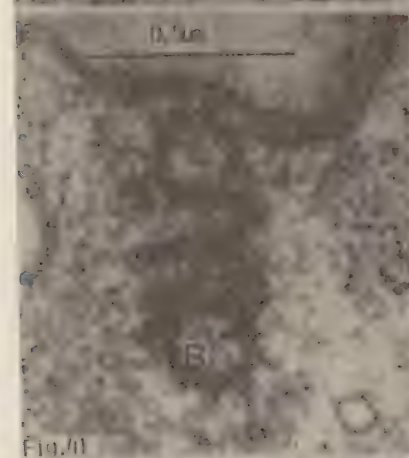
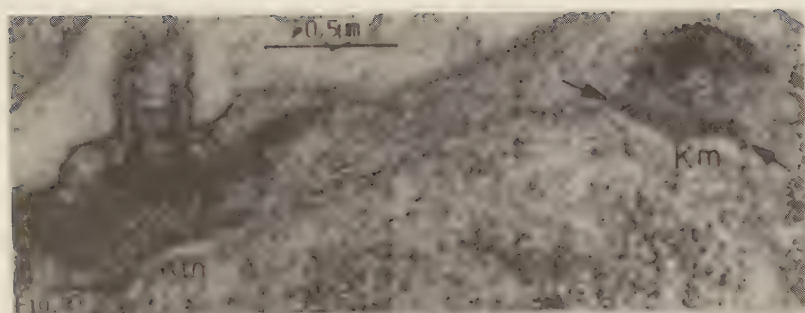


Fig.45a-i: Die Serie etwas schräger Längsschnitte durch einen Basalkörperkomplex einer Metaphasezelle belegt die Existenz zweier Probasalkörper (Pb_{1+2}), deren Längsachsen etwa senkrecht zu den Längsachsen der künftigen flagellentragenden Basalkörper (B_1, B_I) orientiert sind. In der großen Wurzelfaser (W_2) sind 5 Mikrotubuli nachweisbar. Eine zweite offensichtlich in Bildung begriffene Wurzelfaser (W) besteht an ihrem Beginn (f) aus 4-5 Mikrotubuli, von denen 2 ca. 300nm lang zu verfolgen sind.

Fig.46-49: Längsschnitte durch Mitosekerne

Fig.46: Zum Zeitpunkt der Prometaphase des 4. Teilungszyklus liegen außer in der sich formierenden Äquatorialplatte (dK) größere Aggregate "dichten Kernmaterials" (Doppelpfeil) nur noch in unmittelbarer Nähe der Äquatorialplatte. Der übrige Teil des Nukleoplasmas enthält granuläre Elemente unterschiedlicher Größe, ohne daß ein bestimmtes Verteilungsmuster erkennbar wäre. Pfeile: Kinetochore, Basalkörper (B).

Fig.47: Während der Metaphase (3. Teilungszyklus) ist eine Entmischung des Nukleoplasmas festzustellen. Beiderseits der Äquatorialplatte (dK) kommt es in der zentralen Region zu einer Verdichtung der granulären Elemente, wohingegen die Kernperipherie daran verarmt. Es ist bei dieser Vergrößerung nur schwer zu erkennen, daß die granareiche Region weniger Mikrotubuli enthält als die granaarme Peripherie. Pfeile: Kinetochore, Basalkörper (B).

Fig.48: Während der frühen Anaphase (3. Teilungszyklus) stehen die zukünftigen Anaphaseplatten (dK) noch durch einen Strang "dichten Kernmaterials" miteinander in Verbindung, was zu einem etwa hantelförmigen Aussehen des "dichten Kernmaterials" führt. Pfeile: Kinetochore.

Fig.49: Zum Zeitpunkt der späten Anaphase (2. Teilungszyklus) haben die Anaphaseplatten (dK) die Pole des in diesem speziellen Fall bananenförmig gebogenen Kerns fast erreicht. Die Granadichte in der Interzonalregion (Ir) ist nach wie vor geringer als in der Zentralregion des Metaphasekerns.

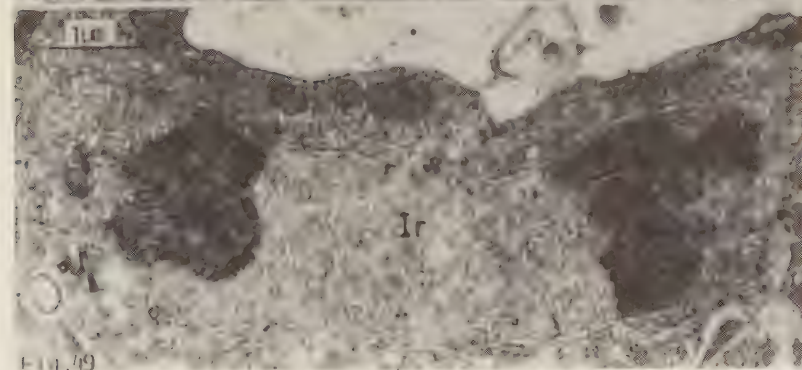
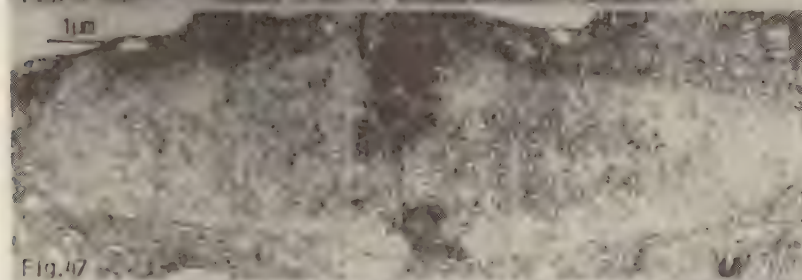


Fig.50 und 51: Querschnitte aus einem späten Prophasekern auf jeweils etwa halber Höhe zwischen der Äquatorialebene und dem Kernpol.

Auf der einen Seite (**Fig.50**) liegt "dichtes Kernmaterial" in einer kompakten Ansammlung vor (Pfeil), und ein Kernbereich weist kaum Mikrotubulianschnitte auf (Areal innerhalb des Kreises).

Auf der anderen Seite (**Fig.51**) ist "dichtes Kernmaterial" diffus verteilt, und Mikrotubuliprofile sind im gesamten Kernanschnitt sichtbar.

Kernmembran (Km).

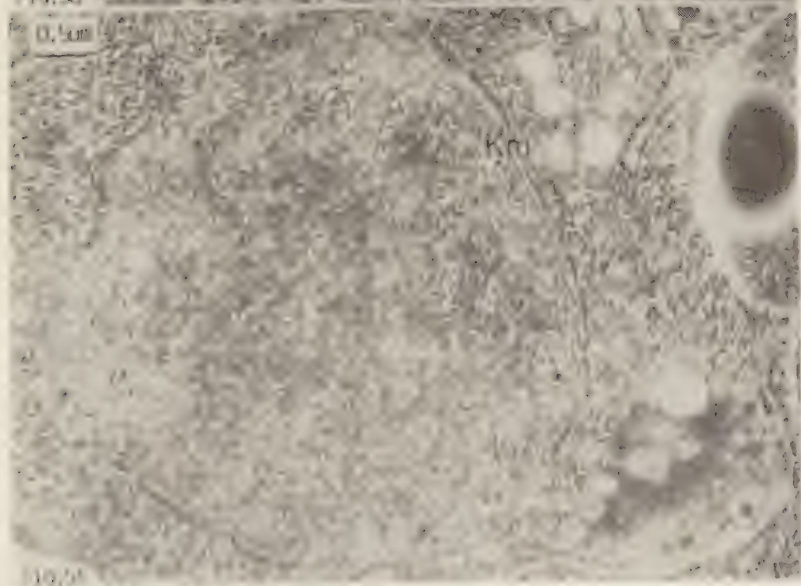
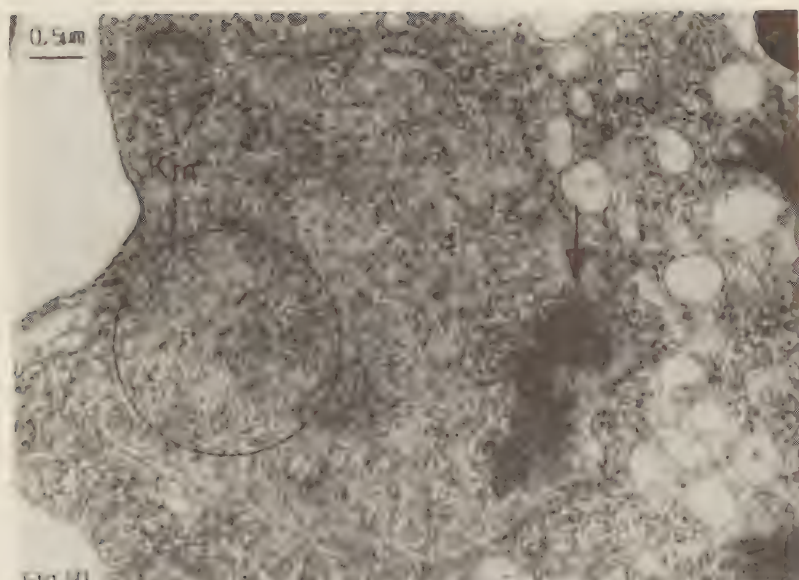


Fig.52: Querschnitt durch einen Metaphasekern auf der Höhe der Äquatorialplatte. Mikrotubuliprofile besetzen vor allen die transparenten Kernbereiche. "dichtes Kernmaterial" (dK), Kernmembran (kM).

Fig.53: Querschnitt durch einen Metaphasekern auf halbem Weg zwischen Äquatorialplatte und Pol. Im zentralen mikrotubuliarmen Bereich sind diffus verteilte, granuläre Elemente angereichert (x).

Inset: Querschnitt durch einen der selten angetroffenen Tubuli mit einem zentralen Filament.



FIG. 2 (cont.)



FIG. 3

Fig.54: Querschnitt durch die Interzonalspindel eines frühen Anaphasekerns, in dem ein Strang "dichten Kernmaterials" (dK) die beiden Anaphaseplatten verbindet. Im Vergleich zur umliegenden Kernregion sind nur wenige Mikrotubuliprofile in dem Anschnitt des Strangs enthalten.

Fig.55a-m: Serie von Querschnitten aus der Interzonalregion eines frühen Anaphasekerns. Es soll die Beziehung zweier Tubuli (1 und 2) verdeutlicht werden. Tubulus 1 läuft in spitzem Winkel auf Tubulus 2 zu (a-c), verliert ein Stück seiner Wand und gewinnt Kontakt mit Tubulus 2, so daß im Querschnitt insgesamt ein Ring mit einem hakenförmigen Fortsatz resultiert (d-l). Diese Assoziation bleibt ungefähr 600 nm bestehen, bis dann Tubulus 1 gänzlich endet (m).

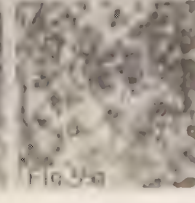
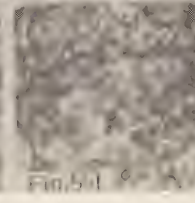
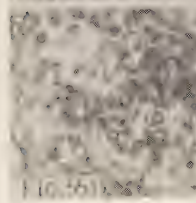
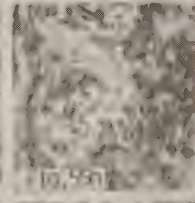
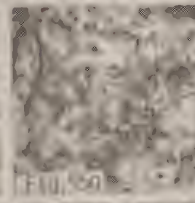
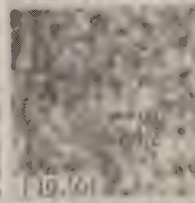
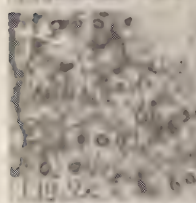
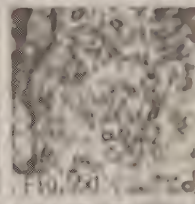
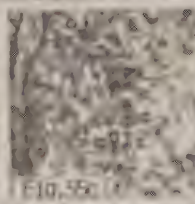
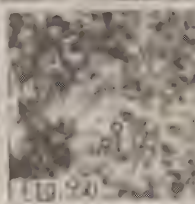
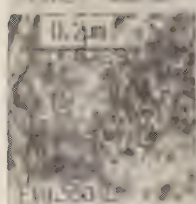
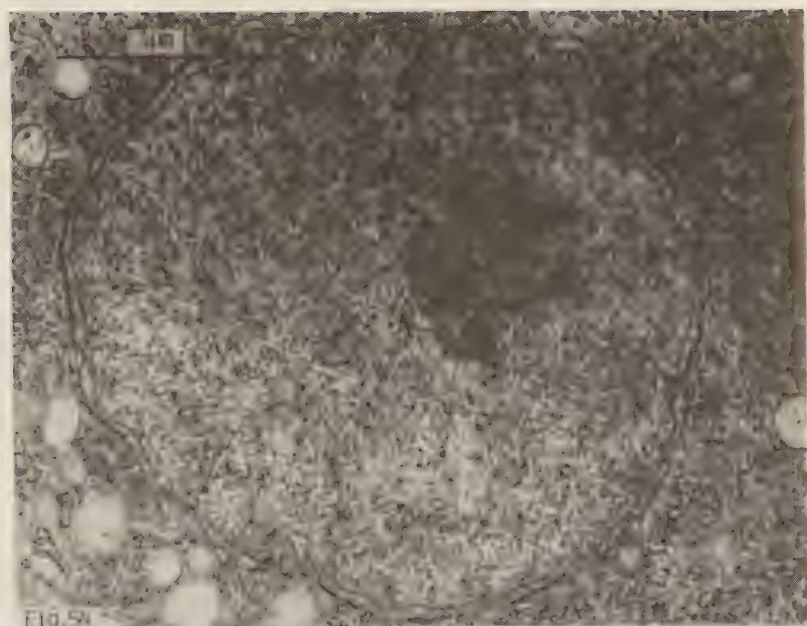


Fig.56-58: Querschnitte durch einen späten Anaphasekern .

Auf der Höhe der Anaphaseplatte (**Fig.56**) führen Mikrotubuli hauptsächlich durch die transparenten Areale. Im Schnitt durch die Interzonalspindel (**Fig.57**), der ziemlich exakt aus der Mitte zwischen den beiden Anaphaseplatten stammt, gehören die meisten Mikrotubuliprofile zu Gruppen aus 2-5 Mikrotubuli. Der Schnitt aus dem Kernbereich zwischen Anaphaseplatte und Pol (**Fig.58**) enthält sowohl "dichtes Kernmaterial" (dK) in kompakter Form als auch Mikrotubuliprofile, die bevorzugt die Kernperipherie besetzen. Kernmembran (Km).



FIG. 5



FIG. 6



FIG. 7

Fig.59a-d: Vier auf der Höhe der Äquatorialplatte aus einer Querschnittsreihe durch einen Metaphasekern ausgewählte Folgeschnitte, die demonstrieren, wie leicht man das Ende eines Tubulus (1) und den gleichzeitigen Beginn eines Nachbartubulus (2) übersehen könnte. Als Folge davon würde man den Tubulus 2 als Fortsetzung von Tubulus 1 registrieren. In den meisten Fällen erkennt man jedoch wie beim Tubulus 3 das Ende eindeutig.

Fig.60a-f: Sechs in Polnähe aus einer Querschnittsreihe durch einen Metaphasekern ausgewählte Folgeschnitte zeigen, daß sich die Lage eines schräg verlaufenden Tubulus (2) zu festen Bezugspunkten (=viereckig umrandete Mikrotubulipprofile) verändert. So taucht Tubulus 2 nach einigen Schnitten fast an der gleichen Stelle auf (f), die zwei Schnitte vorher noch von Tubulus 1 besetzt war. Letzterer ist in seiner gesamten Länge in der Schnittserie enthalten.

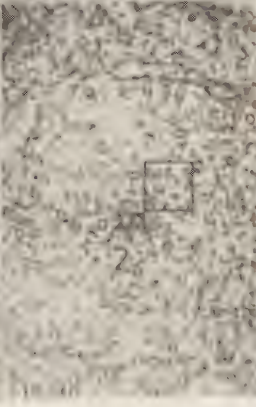
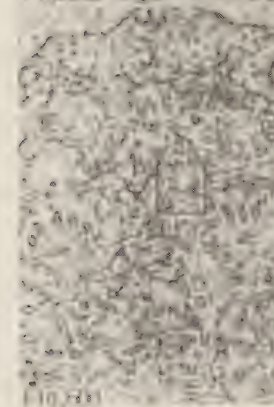
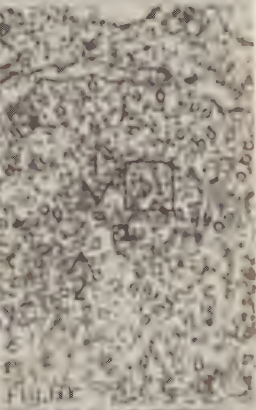
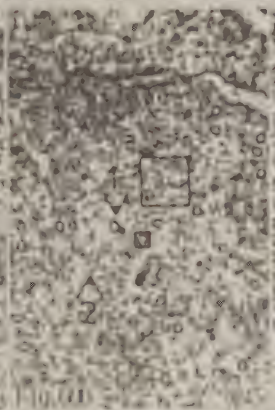
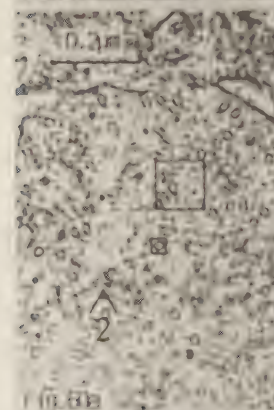
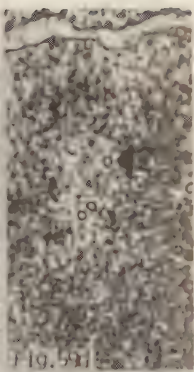
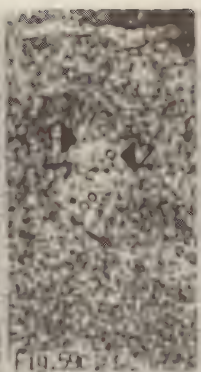
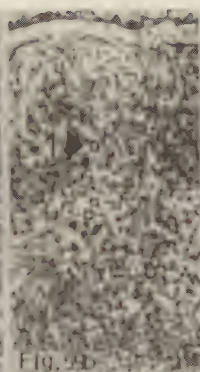
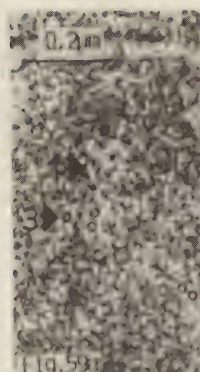


Fig.61a-p: Ausschnitt aus der Interzonalspindel eines in eine Serie von Querschnitten zerlegten späten Anaphasekerns. Im Allgemeinen läßt sich die Mehrzahl der Mikrotubuli ähnlich wie Tubulus 1 in diesen 15 Folgeschnitten ohne besondere Schwierigkeiten verfolgen.

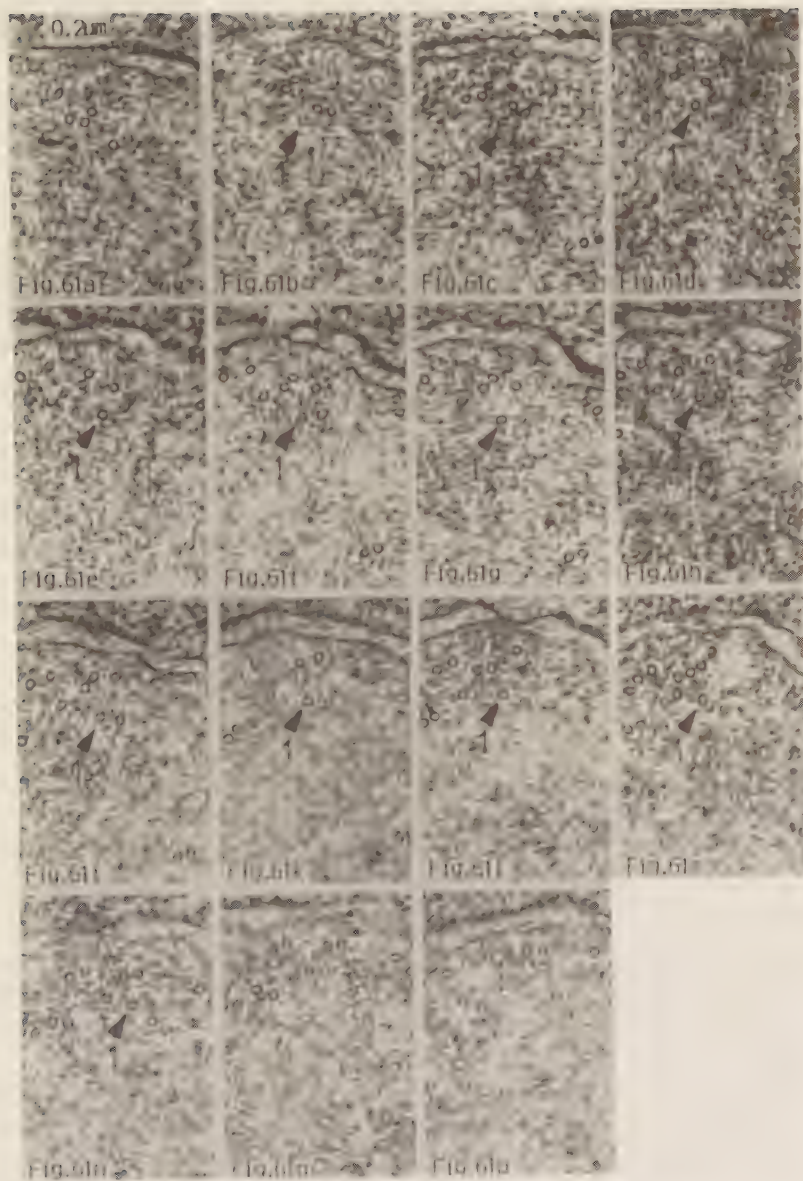


Fig.62a-h: Ausschnitt aus der Interzonalspindel eines vollständig in Querschnitte zerlegten späten Anaphasekerns. In diesen Folgeschnitten wird die Überlappung der Enden zweier entgegengesetzt polarisierter Mikrotubuli (1 und 2) über eine Länge von ca. 500 nm belegt. Nur zwischen dem Ende des Tubulus 2 und seinem Partner (1) existiert eine brückenartige Verbindung (Pfeil in b und c).

Fig.63: Die zwei an der sich formierenden Äquatorialplatte (dK) einander gegenüberliegenden Schwesterkinetochore sind in diesem Längsschnitt durch einen Prometaphasekern an ihrer Schichtung (Pfeile) zu erkennen. Während die Kinetochormikrotubuli (kMt) an der äußersten Schicht der Kinetochore enden, ziehen die nicht mit Kinetochoren assoziierten Mikrotubuli (nkMt) durch die transparenten "Kanäle" in der Äquatorialplatte.

Fig.64a-d: Die vier aus einer Querschnittserie durch einen Metaphasekern ausgewählten Ausschnitte sind in Richtung Metaphaseplatte - Pol (a - d) aneinandergereiht. Sie zeigen zwei Kinetochore (I und II, durch Kreise kenntlich gemacht) und die mit ihnen assoziierten Kinetochormikrotubuli. Kinetochor I besitzt 5 Kinetochormikrotubuli (1-5), Kinetochor II nur 3 (1 - 3). Je nachdem wie die Lagen des geschichteten Kinetochors auf die Folgeschnitte verteilt sind, gibt es Kontrastunterschiede zwischen aufeinander folgenden Schnitten wie im Fall des Kinetochors I, oder aber beide Anschnitte (a,b) haben gleichen Kontrast, wie im Fall des Kinetochors II.

Fig.65a-d: Vier Querschnitte in Folge durch ein Kinetochor eines späten Anaphasekerns. Die fünf an bzw. in amorphen Material inserierenden Kinetochormikrotubuli (1-5) setzen sich aus einer eng benachbarten Dreiergruppe und zwei Tubuli mit weiteren intertubulären Abständen zusammen. Durch diese weiteren Zwischenräume können schon ca. 200nm vom Kinetochor entfernt schräg verlaufende nicht mit dem Kinetochor assoziierte Mikrotubuli (Pfeile) ziehen.

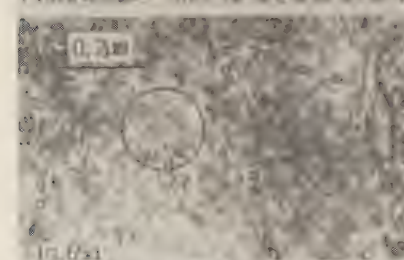
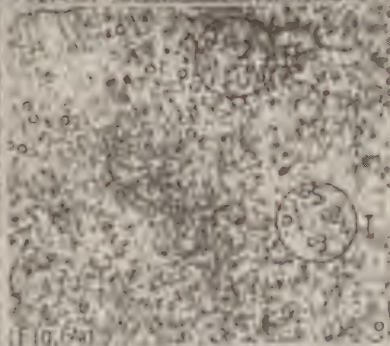
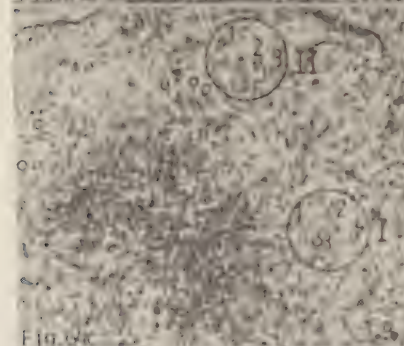
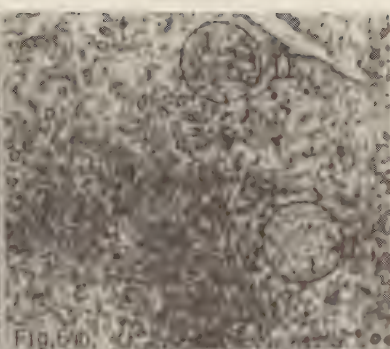
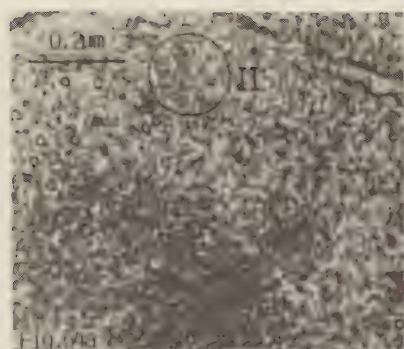


Fig.66-69: Längsschnitte durch unterschiedlich weit in der Entwicklung fortgeschrittene Telophasekerne, von denen 3 mit Sicherheit und der vierte höchstwahrscheinlich den 3. Teilungszyklus durchliefen.

Die progressive Reduzierung der Interzonalregion (Ir) wird dadurch eingeleitet, daß der Kern etwa in der Mitte und entlang der Innenränder des zweigeteilten "dichten Kernmaterials" (dK) eingeschnürt (Pfeile in **Fig.67**) bzw. durchgeschnürt (**Fig.68**) wird. Die resultierenden Interzonalkörper verschwinden schließlich ganz (**Fig.69**), und die beiden künftigen Tochterkerne bleiben zurück. Kernmembran (K_m).



Fig. 65

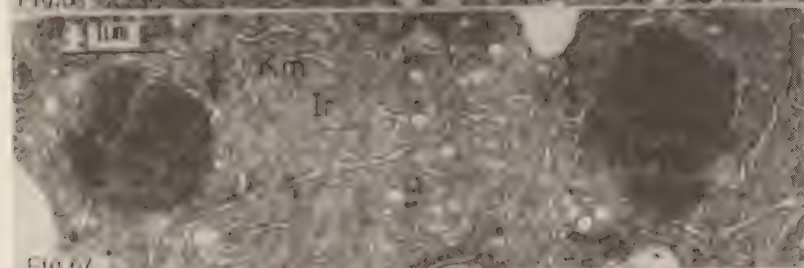


Fig. 67

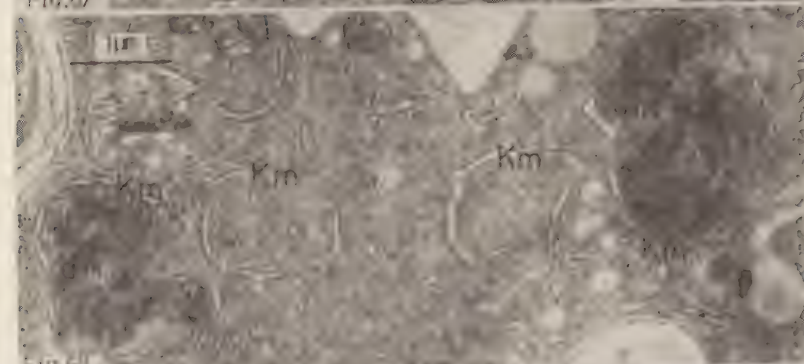


Fig. 68



Fig. 69

Fig.70a-g: Auswahl von Schnitten durch den Basalkörperkomplex einer späten Telophasezelle (Tochterkerne getrennt). Aus den ersten 3 Serienschnitten (a-c) geht die Lage der künftigen flagellentragenden Basalkörper (fB) zueinander und zu den Probasalkörpern (Pb) hervor. Alle vier Wurzelfasern sind vorhanden (W_1 , W_2). Zwischen den sich nach einer Lücke von 2 Schnitten anschließenden Aufnahmen (d-g) ist jeweils ein Schnitt ausgespart. In d ist der Querschnitt durch die Übergangsregion zwischen Basalkörper und der Geißel an der dafür charakteristischen "sternförmigen Struktur" erkennbar. e, f und g zeigen die Morphogenese der Doppeltubuli: das Spitzenwachstum des Tubulus A (Pfeile) geht dem des Tubulus B voraus. Die Spitzen der Doppeltubuli enden auf unterschiedlichen Niveaus.

Fig.71: Längsschnitt durch die beiden vor der Trennung stehenden künftigen Tochterzellen (späte Cytokinese). Anschnitt des Basalkörperkomplexes (B), Kern (K), Nukleolus (N).

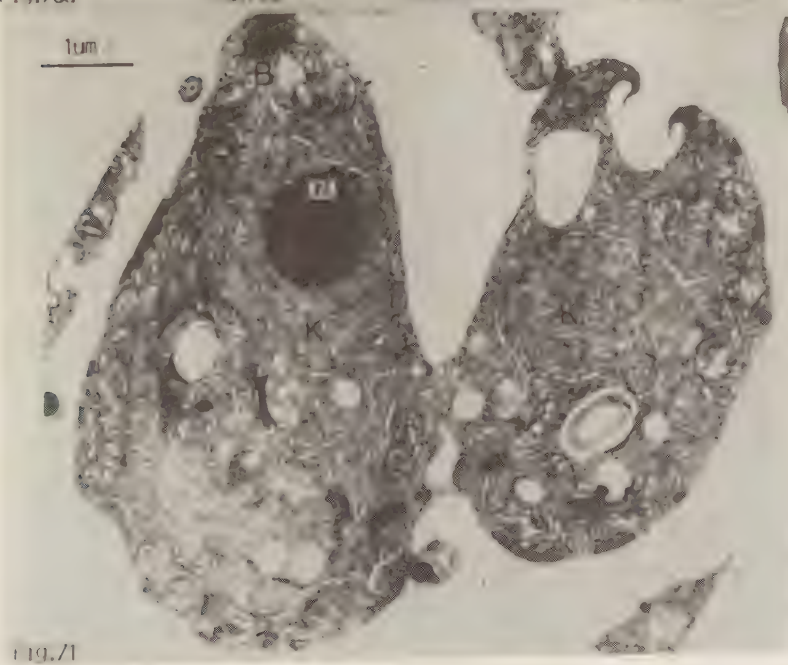


Fig.72a-d: Vier aufeinanderfolgende etwas schräge Tangentialschnitte durch die vorderste sichelförmig gebogene Front des Cytokinespaltes einer Telophasezelle. Die beiden großen Wurzelfasern (W_2) flankieren sowohl entgegengesetzt als auch auf gegenüberliegenden Seiten verlaufend den Cytokinespalt. In der "Sichelmittle" (a) haben die beiden Wurzelfasern, annähernd parallel verlaufend, den geringsten Abstand voneinander. Seitlich und unterhalb der Wurzelfaserzüge finden sich vor allem kurze Längsprofile cytoplasmatischer Mikrotubuli.



Fig.73: Querschnitt durch eine relativ unregelmäßig gestaltete Tochterzelle auf Höhe des exzentrisch liegenden Kerns (K). Diese Zelle hat noch keine eigene Zellwand gebildet. Während die zahlreichen corticalen Mikrotubuli (Pfeile kennzeichnen einige Gruppen) fast ausschließlich unterhalb der Plasmamembran angetroffen werden, befinden sich die wenigen Mikrotubuli aus dem zentralen System (durch Kreise markiert) in Kernnähe. Nukleolus (N).

Fig.74: Querschnitt durch eine Tochterzelle mit eigener Zellwand, die im **Inset** deutlicher erkennbar ist als in der Übersichtsaufnahme. Die Zelle ist auf der Höhe des zentral liegenden Kerns (K) getroffen. Die geometrische Regelmäßigkeit der Form dieser Tochterzelle hat gegenüber der in Fig.73 dargestellten Zelle deutlich zugenommen. Neben den unverändert unter der Plasmamembran liegenden corticalen Mikrotubuli (Pfeile) befinden sich kleine Bündel zentraler Mikrotubuli (durch Kreise gekennzeichnet) in unmittelbarer Nachbarschaft der Kernoberfläche. Nukleolus (N).

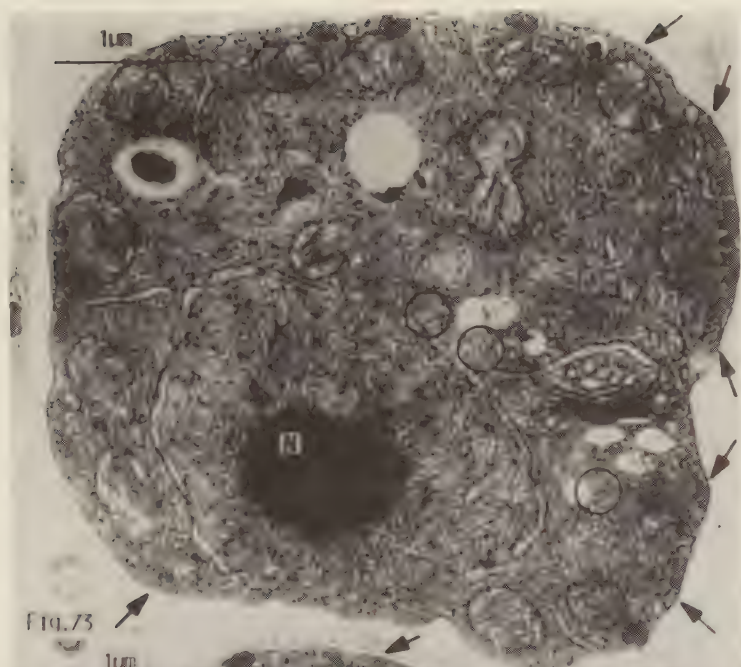


FIG. 73

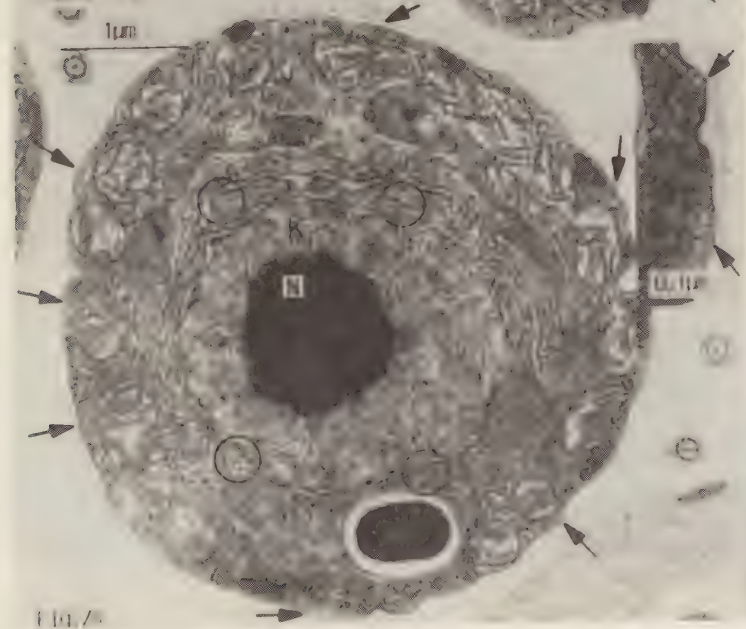
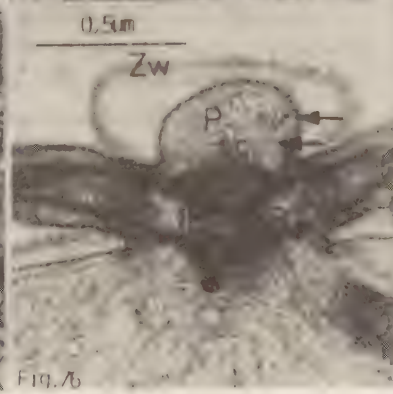
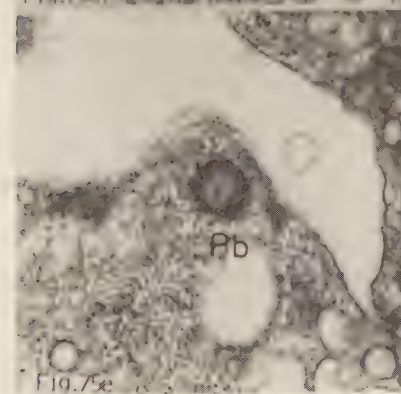
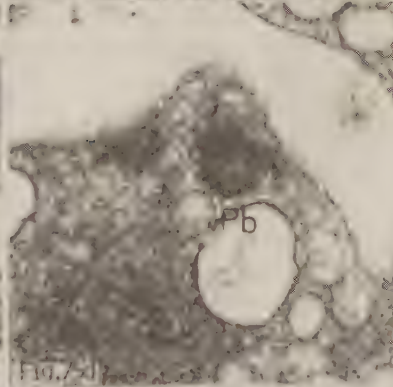
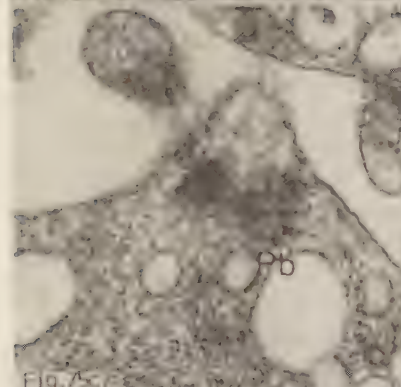
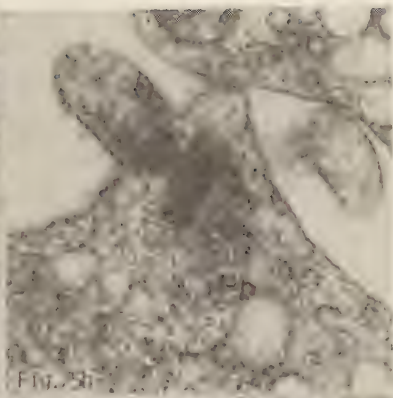
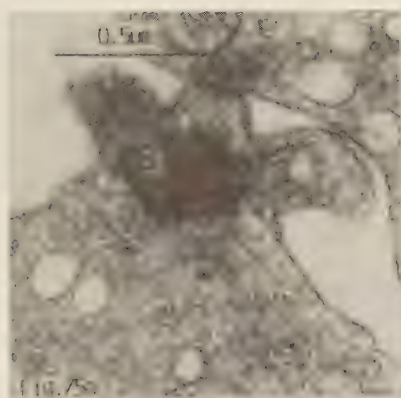


Fig.75a-e: Querschnittserie durch den Probasalkkörper (Pb) einer Tochterzelle vor der Wandbildung. Tripletts sind in diesem Fall nur über die halbe Länge (d,e) des Probasalkkörpers ausgebildet. In die andere Hälfte, die zum künftigen flagellentragenden Basalkörper (fB) hinzeigt, setzen sich nur die A-Tubuli der Tripletts fort. Die Wagenradstruktur fehlt im basalkörperfernen Viertel des Probasalkkörpers (e).

Fig.76: Längsschnitt durch den apikalen Pol einer Tochterzelle nach Ausbildung einer eigenen Zellwand (Zw), aber noch innerhalb der Sporangienhülle. In diesem speziellen Stadium treten Mikrotubuli (Pfeile) auch innerhalb der Papille (P) auf. Flagellentragender Basalkörper (fB), "striated connexion" (sc).



Danken möchte ich an dieser Stelle Herrn Prof. Dr. C. G. Arnold (Erlangen) für die Überlassung der Thematik zur weitgehend selbständigen Bearbeitung, Herrn Dr. K.P. Gaffal (Erlangen) für die umfassende Förderung des Vorhabens in jeder seiner Phasen und Frau G.J. Schneider (Erlangen) für die Unterstützung bei der Elektronenmikroskopie und bei phototechnischen Problemen.

Dank gebührt weiterhin Herrn Prof. Dr. W. Traut (Lübeck) für die Möglichkeit, die Schreibarbeit am Institut für Biologie der Medizinischen Hochschule Lübeck zu Ende zu führen, und Herrn Dr. A. Weith (Lübeck) für die Einweisung in das Editorprogramm.

Lebenslauf:

3. Mai 1953 Geboren in Lorenzreuth (Kreis Wunsiedel, Bayern) als einziges Kind des Bundesbahnbeamten Arno Wolf und seiner Ehefrau Helga, geb. Reichel
- Sept.1959 - Juni 1964 Besuch der Volksschule Lorenzreuth
- Sept.1964 Übertritt in den neusprachlichen Zweig des Otto-Hahn-Gymnasiums Marktredwitz
- Juni 1973 Abitur
- Juli 1973 - Sept.1974 Wehrdienst
- Okt.1974 Beginn des Studiums Biologie und Chemie für das Lehramt an Gymnasien an der Universität Erlangen-Nürnberg
- Juli 1976 Zwischenprüfung im Fach Chemie
- April 1977 Zwischenprüfung im Fach Biologie
- Herbst 1977 Prüfung in Erziehungswissenschaften
- Herbst 1979 Wissenschaftliche Prüfung für das Lehramt an Gymnasien
- Nov.1980 Diplomprüfung in Biologie und Beginn einer Doktorarbeit am Institut für Botanik und Pharmazeutische Biologie der Universität Erlangen-Nürnberg
- Okt.1981 Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Botanik und Pharmazeutische Biologie
- Okt.1983 Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Biologie der Medizinischen Hochschule Lübeck.

